

**ÜBER DEN ABBAU UND DIE KONVERSION VON TESTOSTERON IN VITRO
DURCH LEBERGEWEBE DES MENSCHEN**

Peter Unterburger

1973

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Professor Dr.med. H.Schwiegk

ÜBER DEN ABBAU UND DIE KONVERSION VON TESTOSTERON IN VITRO
DURCH LEBERGEWEBE DES MENSCHEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Peter U n t e r b u r g e r

aus Baierbrunn

1973



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
München

Berichterstatter: Prof.Dr.H.J. Karl

Mitberichterstatter: Prof,Dr,H,Schwieglk

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.10.1973

MEINEN ELTERN

IN DANKBARKEIT GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

A Einleitung

B Fragestellung

C Methode

I. Reagenzien

II. Arbeitsvorschrift

- 1) Gewinnung des Lebergewebes
- 2) Inkubation des Lebergewebes
- 3) Extraktion des Inkubates, Reinigung und Gaschromatographie des Extraktes
- 4) Berechnung der Ergebnisse

D Ergebnisse und Diskussion

I. Ergebnisse der methodischen Versuche

- 1) Gaschromatographische Trennung der Steroide
- 2) Prüfung der Beständigkeit der radioaktiv markierten Steroide bei Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie, sowie der Einfluß von Bakterien im Ansatz.
- 3) Bestimmung der Wiederfindungsraten nach den einzelnen methodischen Schritten

II. Diskussion der Methode

III. Ergebnisse der Inkubationsversuche mit Lebergewebe

- 1) Abbau von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch perkutan und operativ gewonnenes Lebergewebe von Menschen.

Zum Vergleich ergänzende Versuche mit Rattenlebergewebe

- a) Abbau von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch perkutan gewonnenes Lebergewebe von Menschen
- b) Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch perkutan gewonnenes Lebergewebe
- c) Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch operativ gewonnenes Lebergewebe
- d) Zum Vergleich ergänzende Versuche mit Lebergewebe von Ratten

- 2) Einfluß verschiedener Inkubationsbedingungen auf den Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion
- 3) Der Abbau von Testosteron über den 17-Keto- bzw. den 17-Hydroxy-Weg
- 4) Der Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch normales Lebergewebe von Männern und Frauen
- 5) Der Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch pathologisch verändertes Lebergewebe von Männern und Frauen
- 6) Der Metabolismus von Testosteron und Δ^4 -Androstendion durch Lebergewebe von Patienten mit Hypogonadismus und mit Cushing-Syndrom

IV. Diskussion der Ergebnisse

E Zusammenfassung

F Anhang

Zusammenstellung der Einzelergebnisse

G Literaturübersicht

Verwendete Trivialnamen und Abkürzungen

5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol	=	Androstandiol	=	5 α ,3 α -Adiol
5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol	=	5 β -Androstandiol	=	5 β ,3 α -Adiol
5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol	=	5 α ,3 β -Adiol		
5 α -Androstan-3 α -ol-17-on	=	Androsteron	=	5 α ,3 α -A
5 β -Androstan-3 α -ol-17-on	=	Ätiocholanolon	=	5 β ,3 α -A
5 α -Androstan-17 β -ol-3-on	=	5 α -Dihydrotestosteron	=	5 α -DHT
5 β -Androstan-17 β -ol-3-on	=	5 β -Dihydrotestosteron	=	5 β -DHT
Androst-4-en-17 α -ol-3-on	=	Epitestosteron	=	e-T
Androst-4-en-17 β -ol-3-on	=	Testosteron	=	T
5 α -Androstan-3,17-dion	=	5 α -Androstandion	=	5 α -Adion
5 β -Androstan-3,17-dion	=	5 β -Androstandion	=	5 β -Adion
Androst-4-en-3,17-dion	=	Androstendion	=	Δ^4 -A
6 β -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on	=	6 β -OH-Testosteron		
16 α -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on	=	16 α -OH-Testosteron		
6 β -Hydroxyandrost-4-en-3,17-dion	=	6 β -OH-Androstendion		
16 α -Hydroxyandrost-4-en-3,17-dion	=	16 α -OH-Androstendion		
5 β -Androstan-3 α -ol-17-on	=	Epiandrosteron		

A EINLEITUNG

Durch zahlreiche Versuche konnte gezeigt werden, daß durch verschiedene Gewebe von Tieren und Menschen androgene Hormone in vitro metabolisiert werden (1-4). Sogar in den Testes, der Bildungsstätte des Testosteron, findet nicht nur die Biosynthese, sondern auch ein Stoffwechsel dieses Hormones statt (5).

Inwieweit Zusammenhänge zwischen dem Stoffwechsel von Testosteron und der physiologischen Wirkung der Hormone bestehen, ist noch ungeklärt. Es hat sich jedoch gezeigt, daß in Organen, in denen eine Wirkung von Testosteron nachweisbar ist (z.B. Erfolgsorgan Prostata: Zellhyperplasie und Sekretionssteigerung), ein besonderer Metabolismus gefunden wurde (6;7). "Metaboliten" von Testosteron in der Prostata und in anderen sog. Erfolgsorganen (z.B. Haut) sind vor allem 5 α -hydrierte Verbindungen. Eine besondere Stellung unter diesen Verbindungen nimmt 5 α -Dihydrotestosteron ein. Dieses Steroid wird als Wirkform des "Prähormones" Testosteron angesehen, da es biologisch wirksamer ist (8;9)..

Der Abbau von Testosteron erfolgt zu einem wesentlichen Teil in der Leber. Eine große Zahl von Untersuchungen über den Testosteron-metabolismus wurde deshalb mit Lebergewebe durchgeführt. Dabei sind die Untersuchungen mit Lebergewebe von Tieren weitaus zahlreicher, als die mit Lebergewebe von Menschen.

1947 wurden von SAMUELS et al. (10) Lebergewebsschnitte verschiedener Tierspezies mit Testosteron inkubiert. Diese Autoren fanden, daß Testosteron am C-Atom 17 dehydriert und die Doppelbindung zwischen C4 und C5 hydriert werden kann. 1958 konnten YATES et al. (11) an Rattenleberhomogenaten eine Hydrierung der Doppelbindung von Δ 4-3-Ketosteroiden und eine Reduktion der 3-Ketogruppe zu 3 α - und 3 β -hydrierten Verbindungen nachweisen. Diese Arbeitsgruppe fand bei ihren Untersuchungen Unterschiede im Stoffwechsel von Δ 4-3-Ketosteroiden durch Leberhomogenate von geschlechtsreifen weiblichen und männlichen Ratten. Leberhomogenate weiblicher Ratten reduzierten die Δ 4-Doppelbindung in höherem Ausmaß als Leberhomogenate männlicher Ratten. Die 3-Ketogruppe wurde von Leberhomogenate männlicher Ratten bevorzugt in 3 β -Stellung reduziert, während Leberhomogenate weiblicher Ratten diese Gruppe in 3 α -Stellung reduzierten. SCHRIEFERS et al. hatten 1967 (12) bei Perfusionen isolierter Rattenlebern mit Testosteron sowohl 5 α - als auch 5 β -hydrierte Metaboliten nachgewiesen. Bei dieser Untersuchung wurden auch Geschlechtsunterschiede gefunden. Lebern von weiblichen Ratten bildeten mehr 5 α - und 3 α -hydrierte bzw. hydroxylierte Verbindungen als Lebern von männlichen Ratten. 1969 perfundierten DEMISCH et al. (13) isolierte Lebern von Meerschweinchen mit Testosteron. Sowohl aus dem Perfusat, als auch aus dem Lebergewebe, das getrennt aufgearbeitet wurde konnten - im Gegensatz zu den Befunden bei Ratten - neben

hydroxylierten nur 5 β -hydrierte Verbindungen, aber keine 5 α -hydrierten Verbindungen isoliert werden. Nur im Lebergewebe, nicht jedoch im Perfusat, fand sich eine weitere 5 β -hydrierte Verbindung, 5 β -Androstan-17 β -ol-3-on.

Mit Lebergewebe von Menschen wurden bisher folgende Untersuchungen über den Testosteronmetabolismus durchgeführt:

1947 inkubierten SAMUELS et al. (10) unter anderem Lebergewebschnitte von Menschen. Wie schon bei ihren Versuchen mit Lebergewebe von Tieren, fanden sie auch hier Metaboliten, die am C-Atom 17 eine Ketogruppe trugen und Metaboliten, bei denen die 4-Doppelbindung hydriert war. 1961 führten STYLIANOU et al. (14) einen Inkubationsversuch mit dem Homogenat eines 0,25 g schweren Lebergewebsstückchens, das intraoperativ gewonnen wurde, durch. Sie inkubierten das homogenisierte Gewebe mit 4 μ C 4-¹⁴C-Testosteron (spez. Aktivität nicht angegeben) 90 Minuten lang bei 36°C in Kaliumphosphatpuffer bei einem pH von 7,0 in Luftatmosphäre. Dem Inkubationsmedium waren zugesetzt: Nicotinamid, Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA), Glucose-6-Phosphat, Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase. Durch Papierchromatographie in verschiedenen Systemen und durch nachfolgende Kristallisation bis zur konstanten spezifischen Aktivität konnten folgende 5 Metaboliten isoliert werden: Androst-4-en-3,17-dion; Androst-4,16-dien-3-on; 5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol; 5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol und 5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol. Zwei Untersuchungen liegen vor, die sich mit dem Testosteronstoffwechsel in Schnitten von histologisch normalem und von zirrhotisch verändertem Lebergewebe von Menschen befassen. 1965 untersuchten LISBOA et al. (15) den Testosteronstoffwechsel in je 4 Schnitten von Lebergewebe mit normaler Histologie und mit zirrhotischem Umbau. Jeweils 150 mg Lebergewebe wurde nach operativer Entnahme als Gewebeschnitte mit 100 μ g nicht radioaktiv markiertem Testosteron in 3 ml Krebs-Phosphatpuffer unter Zusatz von Glucose 60 Minuten bei 37°C und einem pH von 7,4 in Luftatmosphäre inkubiert. Durch wiederholte Dünnschichtchromatographie und durch verschiedene Farbreaktionen konnten folgende Metaboliten nachgewiesen werden: Androst-4-en-16 α -hydroxy-3,17-dion; Androst-4-en-6 β -hydroxy-3,17-dion; Androst-4-en-3,17-dion; 5 α -Androstan-3,17-dion; 5 β -Androstan-3,17-dion; 5 α -Androstan-17 β -ol-3-on; 5 β -Androstan-17 β -ol-3-on; 5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol; 5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol und 5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol. Für zwei weitere Verbindungen bestanden Anhaltspunkte: Androst-4-en-16 α -hydroxy-3-on-17 β -ol und Androst-4-en-6 β -hydroxy-3-on-17 β -ol. 1968 wurden von der selben Arbeitsgruppe (BREUER et al. 16) Inkubationsversuche mit je 3 Schnitten von menschlichem Lebergewebe mit normaler Histologie und mit zirrhotischem Umbau durchgeführt. 100 mg operativ gewonnenes Lebergewebe wurde mit 10 μ g 4-¹⁴C-Testosteron (spez. Akt. nicht angegeben) ohne Zusatz von Cofermenten in 3 ml Krebs-Phosphatpuffer in Luftatmosphäre inkubiert. Dabei wurde gefunden, daß normales Lebergewebe bezogen auf die zugesetzte Testosteronmenge, doppelt soviel hydroxylierte C19-Steroide bildet als zirrhotisches Lebergewebe. In zirrhotischem Lebergewebe wurde andererseits mehr Androstendion gebildet als in normalem Gewebe. Normales Lebergewebe bildete etwas mehr Androstanolone als Zirrhoseleber. Androstandiole wurden von normaler und zirrhotischer Leber in etwa gleicher Menge gebildet.

Aus den bisherigen Untersuchungen des Testosteronstoffwechsels in Lebergewebe von Menschen ergibt sich, daß Testosteron in der Leber zu Androstendion, 5 α - und 5 β -Androstanolonen, Androstandiolen und einigen hydroxylierten Verbindungen metabolisiert werden kann. Es ist jedoch nicht bekannt, in welchen Mengenverhältnissen diese Metaboliten gebildet werden. Warum die bei den in vivo Untersuchungen aus dem Urin isolierten Hauptmetaboliten des Testosteron, Androsteron und Ätiocholanolon, bei den bisherigen in vitro Untersuchungen nicht gefunden werden konnten, ist nicht geklärt. Weiterhin wurden - wie z.B. bei der Ratte - keine Befunde über Geschlechtsunterschiede im Testosteronstoffwechsel durch Lebergewebe von Menschen mitgeteilt. Außer in normalem Lebergewebe wurde der Stoffwechsel von Testosteron nur in einigen Fällen mit pathologischem Lebergewebe (Leberzirrhose) untersucht (15;16). Keine Angaben gibt es über den Stoffwechsel von Testosteron durch Lebergewebe von Patienten mit endokrinen Erkrankungen. Wir haben deshalb den Testosteronstoffwechsel in normalem Lebergewebe von Männern und Frauen, in pathologisch verändertem Lebergewebe und in Lebergewebe von einigen Patienten mit endokrinen Erkrankungen untersucht. Wir setzten bei unseren Untersuchungen bei Leberblindbiopsien gewonnene Lebergewebszylinder ein. Als Substrate verwendeten wir radioaktiv markiertes Testosteron bzw. Androstendion mit höher spezifischer Aktivität.

B FRAGESTELLUNG

- 1) Findet ein Abbau von Testosteron und Δ^4 -Androstendion bei Inkubation mit perkutan und operativ gewonnenem Lebergewebe statt und welche Metaboliten entstehen dabei?
Ergänzende Versuche sollten klären, ob sich der Stoffwechsel durch Lebergewebe von Ratten, vor allem im Hinblick auf Geschlechtsunterschiede von dem durch Lebergewebe des Menschen unterscheidet.
- 2) Welchen Einfluß haben Inkubationsdauer und Zugabe von Testosteron und Δ^4 -Androstendion in einem Ansatz auf den Stoffwechsel von Testosteron?
- 3) Läßt die Zugabe von 4- 14 C-Testosteron und 1,2- 3 H-Androstendion in einem Ansatz Rückschlüsse auf die Abbauewege von Testosteron zu?
- 4) Werden Testosteron und Androstendion durch histologisch normales Lebergewebe von Männern und Frauen unterschiedlich metabolisiert?
- 5) Ist der Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch pathologisch verändertes Lebergewebe von dem durch normales Lebergewebe verschieden?
- 6) Unterscheidet sich der Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch Lebergewebe von Patienten mit endokrinen Erkrankungen von dem durch normales Lebergewebe von Männern bzw. von Frauen?

C METHODE

Die bisherigen Untersuchungen des Testosteronstoffwechsels mit tierischem oder menschlichem Gewebe durchgeführt, erforderten aus methodischen Gründen relativ große Gewebemengen (100 - 200 mg). Daher war es nicht möglich z.B. mit Leberstanzzyllindern (15 - 20 mg) den Metabolismus von androgenen Steroiden beim Menschen zu klären. Voraussetzung war die Entwicklung einer Methode, die es erlaubt, bei geringer Gewebemenge die entsprechenden geringe Substratmenge und die gebildeten Steroidmetaboliten quantitativ nachzuweisen.

Wir verwendeten folgende Reagenzien:

- 1) 4-¹⁴C-Testosteron (spez. Aktivität: 56,1 mCi/mMol)
- 2) 1,2-³H-Androstendion (spez. Aktivität: 48,0 Ci/mMol)

New England Nuclear Corporation (NEN), Boston, Mass., USA

- 3) Krebs-Ringer Stammlösung:

NaCl	8,260	g	p.a. Fa. Merck, Darmstadt
CaCl ₂ ·(H ₂ O) ₂	335,900	mg	"
KCl	422,000	mg	"
MgSO ₄ ·(H ₂ O) ₇	350,000	mg	"
KH ₂ PO ₄	193,500	mg	"

Diese Substanzen werden mit Aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt.

- 4) Natrium-Bikarbonat-Lösung:

NaHCO ₃	1,438	mg	"
--------------------	-------	----	---

wird mit Aqua dest. auf 100 ml aufgefüllt.

- 5) 109 ml Krebs-Ringer Stammlösung werden mit 19 ml Natrium-Bikarbonat-Lösung gemischt und 5 Minuten mit Carbogengas (95% O₂; 5% CO₂) bei 37°C begast, um einen pH von 7,38 einzustellen.

- 6) Inkubationsmedium:

Zu je 10 ml der Pufferlösung werden folgende Cofermente, Enzyme und D-Glucose zugesetzt:

NAD	6,00	µMol	Reinheitsgrad II
NADH + H ⁺	6,00	µMol	"
NADP	5,40	µMol	"
D-Glucose-6-Phosphat	23,00	µMol	
D-Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	20,00	E	"

D-Glucoselösung 50 % 110,00 uMol

Diese Substanzen wurden mit Ausnahme der D-Glucoselösung von der Fa.Boehringer,Mannheim bezogen,die D-Glucose aus der Apotheke der Universitätskliniken,München.

Dieser Versuchsansatz erfolgte nach den Angaben von NORTHCUTT et al. (18).

- 7) Magnesiumtrisilikat: Korngröße: 60-100 mesh/0,15 - 0,25 mm
(Florisil)

Fa. Serva, Heidelberg

- 8) Aluminiumoxyd stand. Aktivitätsstufe III

Fa. Merck, Darmstadt

- 9) Silylierungsmittel:

Pyridin 0,02 ml "Uvasol" Fa. Merck, Darmstadt

Hexamethyldisilazan 0,20 ml Fa. Schuchardt, München

Trimethylchlorsilan 0,02 ml Fa. Serva, Heidelberg

Diese Substanzen werden in dieser Reihenfolge gemischt.

- 10) Säulenmaterial zur Gaschromatographie:

1% Silicon XE 60, Korngröße: 100/120 mesh auf Gaschrom Q

Fa.Beckmann, München

- 11) Szintillationsflüssigkeit:

2-5-Diphenyl-oxazol (PPO) 4,0 g

1,4-bis-2-(4-Methyl-5-Phenyloxazol)-Benzene (POPOP) 0,1 g

Fa. Packard, Frankfurt/M

werden mit Toluol (p.a. Fa.Merck, Darmstadt) auf 1000 ml aufgefüllt.

- 12) Steroid-Reinsubstanzen:

Androst-4-en-3,17-dion

5 α -Androstan-3,17-dion

5 β -Androstan-3,17-dion

Androst-4-en-17 β -ol-3-on

Androst-4-en-17 α -ol-3-on

5 α -Androstan-17 β -ol-3-on

5 β -Androstan-17 β -ol-3-on

5 α -Androstan-3 α -ol-17-on

5 β -Androstan-3 α -ol-17-on

5 α -Androstan-3 β -ol-17-on

5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol

5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol

5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol

5 β -Androstan-3 β ,17 β -diol

Androst-4,16-dien-3-on
 6 β -Hydroxyandrost-4-en-3,17-dion
 16 α -Hydroxyandrost-4-en-3,17-dion
 6 β -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on
 16 α -Hydroxyandrost-4-en-17 β -ol-3-on
 Androst-4-en-3 β ,17 β -diol
 Androst-5-en-3 β ,17 β -diol
 Androst-5-en-3 β ,17 α -diol
 5 α -Androstan-3 α -ol-11,17-dion
 5 α -Androstan-11,3 α -diol-17-on
 5 β -Androstan-11,3 α -diol-17-on
 5 β -Androstan-3 α -ol-11,17-dion

Diese Substanzen wurden von der STEROID-REFERENCE-COLLECTION, London zur Verfügung gestellt. Größere Mengen einzelner Steroide wurden von der Fa. Merck, Darmstadt bezogen, bzw. in großzügiger Weise von der Fa. Schering, Berlin zur Verfügung gestellt.

13) Alle übrigen Reagenzien wurden von der Fa. Merck, Darmstadt p.a. oder "zur Chromatographie" bezogen.

Folgende Apparate wurden zu den Versuchen verwendet:

- 1) Schüttelinkubator nach Warburg: Typ V 166 Fa. Braun, Melsungen
- 2) Homogenisator nach Potter/Elevhejm: Typ 719 Fa. Braun, Melsungen
- 3) Gaschromatographen: Modelle: 7600/7800 und 7400
- 4) Gasfraktionskollektor: Modell: 850
- 5) Tricarb-Szintillations-Spektrometer: Modell: '2002
3-5 Fa. Packard, Instrument Company, Inc., La Grange, Ill., USA

6) Hamiltonspritze: Modell CR 700-20,
 Fa. Hamilton & Co, Whittier, Calif., USA

7) Pasteurpipetten: $\emptyset$: 0,5 cm, Länge: 10,0 cm; No.: H 55699
 Fa. Harshaw Chemie N.V., Utrecht, Holland

Die Pipetten werden mit 0,6 g Florisil bzw. mit 1,0 g Aluminiumoxyd gefüllt und als kleine Säulen zur Adsorptionsextraktion bzw. zur Reinigung der Extrakte verwendet.

8) Tischrechner Programma 101
 Fa. Olivetti

Die Versuche wurden nach der im folgenden gegebenen Arbeitsvorschrift durchgeführt:

1) Gewinnung des Lebergewebes:

Die Leberblindbiopsien wurden von Herrn Professor Dr. Eisenburg bei Patienten durchgeführt, bei denen Verdacht auf eine Lebererkrankung bestand. Die Leberstanzzyylinder wurden sofort nach der Entnahme zur histologischen Untersuchung und zur Inkubation geteilt. Für die Untersuchungen mit Lebergewebsschnitten wurde uns von der chirurgischen Universitätsklinik München (Dir. Prof. Rudolf Zenker) bei entsprechenden Operationen gewonnenes Lebergewebe zur Verfügung gestellt. Der Gewebeanteil für die Inkubation wurde nach der Entnahme in eiskühlte physiologische Kochsalzlösung gegeben und dort bis zur Inkubation (etwa 15 Minuten) belassen.

2) Inkubation des Lebergewebes:

Für jeden Versuchsansatz wurden $1,15 \mu\text{g}$ $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron ($4 \mu\text{mol}$) und $0,0057 \mu\text{g}$ $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androst-4-en-3,17-dion ($20 \mu\text{mol}$), gelöst in $0,1 \text{ ml}$ absolutem Äthanol, in die Inkubationsgefäße pipettiert und das Äthanol im Vakuum abgedampft. Die feuchten Leberstanzzyylinder wurden gewogen und mit 10 ml des Inkubationsmediums (s. S. 8) in das Gefäß mit den radioaktiven Substraten gegeben. Inkubiert wurde $0,5/ 2,0$ oder $6,0$ Stunden bei 37°C im Warburgapparat bei einer Schüttelfrequenz von $100/\text{Minute}$. Zur Einstellung des pH-Wertes wurde das Inkubat die ersten 10 Minuten der Inkubation mit Carbogen begast und die Kölbchen anschließend luftdicht verschlossen. Jedem Versuchsansatz mit Lebergewebe lief ein Kontrollansatz ohne Lebergewebe als Leerwert parallel.

3) Extraktion, Reinigung und Gaschromatographie des Inkubates:

Nach der Inkubation wurde der Inhalt der Warburggläser in Plastikbehälter übertragen. Dann wurde das Inkubat bis zur weiteren Aufarbeitung in einer Tiefkühltruhe bei -30°C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurden dem Inkubat je $12,5 \mu\text{g}$ der folgenden unmarkierten Steroide als interne Standards zugegeben: Androst-4-en-3,17-dion; 5α -Androstan-3,17-dion; 5β -Androstan-3,17-dion; 5α -Androstan- 3α -ol-17-on; 5β -Androstan- 3α -ol-17-on; 5α -Androstan- 17β -ol-3-on; 5β -Androstan- 17β -ol-3-on; Androst-4-en- 17α -ol-3-on; Androst-4-en- 17β -ol-3-on; 5α -Androstan- $3\alpha,17\beta$ -diol; 5β -Androstan- $3\alpha,17\beta$ -diol; 5α -Androstan- $3\beta,17\beta$ -diol.

Jeder Leberstanzzyylinder und Leeransatz wurde dann im Inkubations-

medium homogenisiert und das Homogenat zur "Adsorptionsextraktion" auf eine mit 20 ml Aqua dest. vorgewaschene Florisilsäule (s.S.10) gegeben. Diese Extraktion erfolgte nach den Angaben von WIEDEMANN et al. (19). Das Florisil wurde in der Säule durch Stickstoff getrocknet und anschließend die gebundenen freien Steroide mit 4×1 ml Äthanol eluiert. Im gleichen Arbeitsgang erfolgte die Reinigung des Eluates an einer der Florisilsäule nachgeschalteten Aluminiumoxydsäule (s.S.10). Das Eluat wurde in Spitzgläsern aufgefangen und mit N_2 zur Trockne gebracht. Dem wasserfreien Extrakt wurden dann 0,2 ml des Silylierungsmittels (s.S.9) zugesetzt (20). Nach 12 Stunden Reaktionszeit bei Zimmertemperatur wurde das Pyridin mit wasserfreiem N_2 abgeblasen und der Extrakt in 50 μ l destilliertem Iso-Octan gelöst.

Bevor die jeweiligen Extrakte auf die Säule gebracht wurden, prüften wir die Dichtigkeit des Gaschromatographiesystems durch Messung der Wiederfindung eines $4-^{14}C$ -Testosteronstandards.

5 μ l des silylierten Extraktes wurden auf die 1%-ige XE 60 Säule zur Gaschromatographie injiziert, weitere 5 μ l zur Messung der Gesamtradioaktivität direkt in ein Meßglas gegeben. Das Trägergas und die gasförmigen Steroide wurden nach der Säule mit einem Gassplitter im Verhältnis 1 : 5 geteilt. 1/6 des Gases wurde einem Flammenionisationsdetektor zur Registrierung der zugesetzten, nicht radioaktiv markierten Steroide zugeleitet. Die restlichen 5/6 des Gases wurden entsprechend den Retentionszeiten der internen Standards mittels eines Gasfraktionskollektors getrennt und an Watte in Glasröhrchen kondensiert. Die Watte wurde dann in ein Meßglas gegeben, die Glasröhrchen mit 1 ml Äthanol und 10 ml der Szintillationsflüssigkeit (s.S. 9) in das entsprechende Meßglas nachgespült und die Radioaktivität in den einzelnen Gasfraktionen in einem Flüssigkeitsszintillationsspektrometer gemessen. Die ^{14}C - und 3H -Vergleichsstandards enthielten die gleiche Menge Watte wie die Testproben.

4) Berechnung:

Die getrennt Bestimmung der ^{14}C - und 3H -Aktivität erfolgte nach folgenden Formeln:

$$a) \quad C_n = I_n - R ; \quad b) \quad O_n = J_n - (C_n \times \mathcal{L} + G) ;$$

I_n = gemessene Impulse auf dem I Kanal der Fraktionen 1 - 15

R = Background des I Kanales

- C_n = ^{14}C -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes
 J_n = gemessene Impulse auf dem II. Kanal der Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes
 G = Background des II. Kanales
 φ = $\frac{^{14}\text{C}\text{-Impulse eines Standards, gemessen auf dem II. Kanal}}{^{14}\text{C}\text{-Impulse eines Standards, gemessen auf dem I. Kanal}}$

- O_n = ^3H -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes
 b) Berechnung der prozentualen Verteilung der ^{14}C - und ^3H -Aktivität in den Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes:

$$1) \quad C_{1-15} = 100 \% ; \quad C_n = b_n \% ;$$

$$2) \quad O_{1-15} = 100 \% ; \quad O_n = c_n \% ;$$

- b_n = ^{14}C -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes in Prozent der Summe der ^{14}C -Impulse der Fraktionen 1 - 15
 c_n = ^3H -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Leerwertes in Prozent der Summe der ^3H -Impulse der Fraktionen 1 - 15

- c) Berechnung der ^{14}C - und ^3H -Impulse des Hauptwertes:

$$1) \quad H_n = M_n - R ; \quad 2) \quad S_n = N_n - (H_n \times \varphi + G) ;$$

- M_n = auf dem I. Kanal gemessene Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Hauptwertes
 H_n = ^{14}C -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Hauptwertes
 R = Background des I. Kanales
 N_n = auf dem II. Kanal gemessene Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Hauptwertes
 S_n = ^3H -Impulse der Fraktionen 1 - 15 des Hauptwertes
 G = Background des II. Kanales

d) Leerwert- und Gewichtskorrektur der ^{14}C - und ^3H -Impulse des Hauptwertes:

a) für die ^{14}C -Impulse:

$$1) \quad K_n = H_n - \frac{H_T \times 100}{b_T} \times \frac{b_n}{100} \times \frac{10}{g};$$

$$2) \quad K_T = \frac{H_T \times 100}{b_T} \times \frac{g}{10};$$

K_n = ^{14}C -Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes mit Ausnahme der Testosteronfraktion, nach Leerwert- und Gewichtskorrektur

H_n = ^{14}C -Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes, mit Ausnahme der Testosteronfraktion nach Abzug des Background

K_T = ^{14}C -Impulse der Testosteronfraktion des Hauptwertes nach Leerwert- und Gewichtskorrektur

H_T = ^{14}C -Impulse der Testosteronfraktion des Hauptwertes nach Abzug des Background

b_n = ^{14}C -Impulse aller Fraktionen des Leerwertes, mit Ausnahme der Testosteronfraktion in Prozent der Summe der Impulse aller Fraktionen des Leerwertes

b_T = ^{14}C -Impulse der Testosteronfraktion des Leerwertes in Prozent der Summe der Impulse aller Fraktionen des Leerwertes

g = Gewicht des Leberstanzzyllinders in Milligramm

B) für die ^3H -Impulse:

$$1) \quad T_n = S_n - \frac{S_A \times 100}{c_A} \times \frac{c_n}{100} \times \frac{10}{g} ;$$

$$2) \quad T_A = \frac{S_A \times 100}{c_A} \times \frac{g}{10} ;$$

T_n = ^3H -Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes, mit Ausnahme der Androstendionfraktion nach Leerwert- und Gewichtskorrektur

T_A = ^3H -Impulse der Androstendionfraktion des Hauptwertes nach Leerwert- und Gewichtskorrektur

S_n = ^3H -Impulse der Fraktionen des Hauptwertes, mit Ausnahme der Androstendionfraktion nach Abzug des Background und der ^{14}C -Impulse

S_A = ^3H -Impulse der Androstendionfraktion des Hauptwertes nach Abzug des Background und der ^{14}C -Impulse

c_n = ^3H -Impulse aller Fraktionen des Leerwertes, mit Ausnahme der Androstendionfraktion in Prozent der Summe der ^3H -Impulse aller Fraktionen des Leerwertes

c_A = ^3H -Impulse der Androstendionfraktion des Leerwertes in Prozent der Summe der ^3H -Impulse aller Fraktionen des Leerwertes

g = Gewicht des Leberstanzzyllinders in Milligramm

e) Berechnung der prozentualen Verteilung der Radioaktivität im Hauptwert:

$$1) \quad F_n = K_n \times \frac{100}{\sum K_{1-15}} ; \quad 2) \quad P_n = T_n \times \frac{100}{\sum T_{1-15}} ;$$

F_n = ^{14}C -Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes in Prozent der Summe der Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes

P_n = ^3H -Impulse aller Fraktionen des Hauptwertes in Prozent der Summe aller Impulse der Fraktionen des Hauptwertes

- f) Nach den Angaben von BAULIEU et al. (17) wurde aus der prozentualen Verteilung der ^{14}C - und ^3H -Aktivität jedes untersuchten Metaboliten ein Quotient "R" berechnet. Aus der Höhe dieses Quotienten für einzelne Metaboliten kann man Rückschlüsse auf die Abbauewege von Testosteron ziehen.

$$R = \frac{F_n}{P_n} ;$$

Eine Übersicht über die Methode gibt Abbildung 1.

LEBER

Stanzzylinder 5 - 15 mg

INKUBATION

10 ml Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer
 D-Glucose, Glucose-6-Phosphat
 Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
 NAD, NADH, NADP
 1 µg 4-¹⁴C-Testosteron
 6 ng 1,2-³H-⁴-Androstendion
 6 Stunden, 37°C, pH 7,38

EXTRAKTION

Adsorption des wässrigen Homogenates
 an eine Florisilsäule

VORREINIGUNG

Aluminiumoxydsäule

GASCHROMATOGRAPHIE

TMSi-Äther
 1% XE - 60, 195°C

Gassplitting

1:5

Gasfraktionskollektor

Flammen-
 ionisations-
 detektor

Szintillations-
 spektrometer

Berechnung

Abb.1: Übersicht über die einzelnen methodischen Schritte der
 Inkubationsversuche mit Lebergewebe

D ERGEBNISSE UND DISKUSSION

I. Ergebnisse der Versuche zur Methode

1) Gaschromatographische Trennung der Steroide:

Um Aussagen über die bei den Inkubationsversuchen aus Testosteron entstandenen Metaboliten machen zu können, ist eine chromatographische Methode zur Trennung von Steroiden mit Androstanstruktur notwendig. Die Gaschromatographie hat sich zum Nachweis von C-19-Steroiden, wie zahlreiche Untersuchungen zeigten (21), bewährt. Um ein Gemisch von Androgenen aufzutrennen, ist es vorteilhaft, die Steroide zu TMSi-Äthern umzusetzen (20;23). Die Trennung bei der Gaschromatographie ist im Prinzip von folgenden Faktoren abhängig:

- a) Vom Säulenmaterial und von der Säulenlänge: Für die Trennung der Androgene hat sich 1%-iges XE-60 auf Gaschrom Q bewährt. Die Trennung wird mit zunehmender Säulenlänge besser, da sowohl die Menge der stationären Phase (Säulenmaterial) zunimmt, als auch die Kontaktzeit der gasförmigen Steroide mit dem Säulenmaterial länger wird.
- b) Von der Säulentemperatur: Zur Trennung der silylierten Steroide erwies sich eine Säulentemperatur von 190°C - 220°C als günstig. Bei niedrigerer Temperatur werden die Retentionszeiten zu lange bei höherer Temperatur wird die Trennung unzureichend. Noch günstiger wird die Trennung der Androgene bei Temperaturprogrammierung, die wir bei einem Teil der Versuche unter folgenden Bedingungen durchführten: Anfangstemperatur 170°C über 20 Minuten, Steigerung der Temperatur um 1,5°C/Minute bis 225°C.
- c) Von der Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases: Wird die Durchflußgeschwindigkeit des Trägergases erhöht, steigt der Druck im System und die Kontaktzeit der Steroide mit der stationären Phase nimmt ab, Folge ist eine schlechtere Trennung der Steroide.
- d) Von der sterischen Konfiguration der zu trennenden Steroide: Gut voneinander trennbar sind z.B. 5 α -Androstan-3 α ,17 β -diol von 5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol und 5 α -Androstan-3 β ,17 β -diol, sowie 5 α -Androstan-3 α -ol-17-on von 5 β -Androstan-3 α -ol-17-on und 5 α -Androstan-3 β -ol-17-on. Weniger gut trennbar sind z.B. 5 α -Androstan-3,17-dion von 5 β -Androstan-3,17-dion. Unter den gegebenen

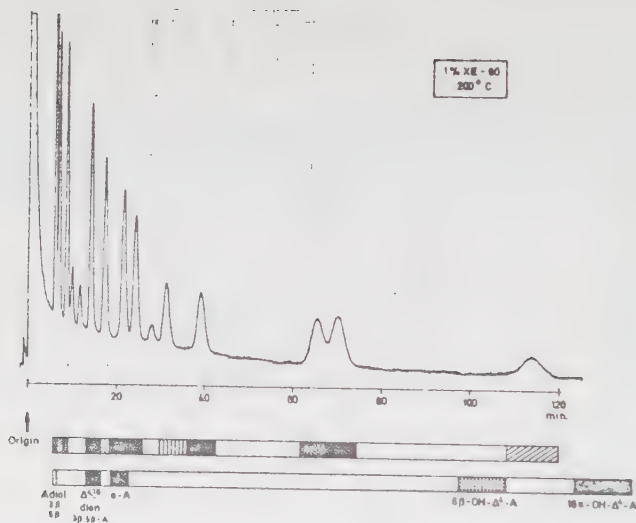


Abb.3: Relative Retentionszeiten von 8, bei den Versuchen nicht zugesetzten androgenen Reinsubstanzen: 5 β -Androstan-3 β , 17 β -diol; 5 β -Androstan-3 β -ol-17-on; Androst-4,16-dien-3-on; 5 α -Androstan-3 β -ol-17-on; Androst-4-en-6 β ,17 β -diol-3-on; Androst-4-en-16 α ,17 β -diol-3-on; Androst-4-en-6 β -ol-3,17-dion und Androst-4-en-16 α -ol-3,17-dion.

- 2) Beständigkeit der radioaktiv markierten Steroide bei der Inkubation, der Extraktion, der Silylierung und der Gaschromatographie, sowie der Einfluß von Bakterien im Ansatz:

Um die Frage zu klären, ob die radioaktiv markierten Steroide bei den einzelnen Arbeitsschritten (z.B. Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie) beständig waren, wurde die Verteilung der Radioaktivität nach Silylierung von 4- 14 C-Testosteron und 1,2- 3 H-Androstendion als Reinsubstanzen und nach 6-stündiger Inkubation dieser Steroide unter den angegebenen Inkubationsbedingungen ohne Lebergewebe mit anschließender Extraktion verglichen. Ein entsprechender Inkubationsversuch ohne Lebergewebe lief jedem Versuch als Leeransatz zur Kontrolle parallel. Eine Silylierung und Gaschromatographie von Reinsubstanzen

fürhten wir fünfmal durch. In den Tabellen 1 und 2, sowie in Abb. 3 ist die Verteilung der Radioaktivität für Testosteron und Androstendion wiedergegeben.

Fraktion	Reinsubstanzen (n=5)			Leerwerte (n=34)		
Vorzone	0,4	±	0,3 %	0,2	±	0,0 %
5 α ,3 α -Adiol	0,3	±	0,2 %	0,1	±	0,0 %
5 β ,3 α -Adiol	0,3	±	0,0 %	0,0	±	0,0 %
5 α ,3 β -Adiol	1,0	±	0,7 %	2,0	±	1,5 %
5 α ,3 α -A	3,3	±	3,0 %	5,3	±	4,0 %
5 β ,3 α -A	0,6	±	0,5 %	0,7	±	0,6 %
5 β -DHT	0,4	±	0,2 %	0,5	±	0,2 %
5 α -DHT	0,6	±	0,3 %	1,2	±	1,0 %
e-T	2,5	±	0,7 %	3,9	±	2,7 %
T	78,8	±	6,0 %	76,2	±	7,5 %
Zwischenzone	3,1	±	2,0 %	3,9	±	2,1 %
5 β -Adion	2,2	±	2,0 %	1,3	±	0,7 %
5 α -Adion	1,1	±	0,9 %	1,3	±	1,0 %
Zwischenzone	3,5	±	2,5 %	3,6	±	2,0 %
Δ^4 -A	1,8	±	0,9 %	2,5	±	1,5 %

Tab.1: Verteilung der Radioaktivität nach Silylierung von 4-¹⁴C-Testosteron als Reinsubstanz (n=5) und nach Inkubation dieser Substanz ohne Lebergewebe (Leeransatz, n=34)

Es zeigte sich, daß nach Silylierung und Gaschromatographie von 4-¹⁴C-Testosteron als Reinsubstanz 78,8 ± 6,0 % der gesamten Radioaktivität in der Testosteronfraktion lokalisiert waren. In der unmittelbar vor Testosteron liegenden Fraktion fanden wir 2,5 ± 0,7 % und in der unmittelbar nach dem Testosteronpeak liegenden Fraktion 3,1 ± 2,0 % der Gesamtaktivität. Auch bei den Leerwerten verteilte sich die Radioaktivität in ähnlicher Weise wie bei den Reinsubstanzen. In der Testosteronfraktion waren bei den Leerwerten noch 76,2 ± 7,5 % der Gesamtaktivität. Nach Silylierung und Gaschromatographie von ⁴-Androstendion als Reinsubstanz waren in der Androstendionfraktion noch 80,1 ± 9,5 % der Gesamtaktivität. 4,5 ± 2,0 % der Gesamtaktivität erschienen in der unmittelbar vor dem Androstendion liegenden Fraktion. Nach Inkubation, Extraktion und Gaschromatographie des silylierten Extraktes waren noch 82,2 ± 4,5 % der Gesamtaktivität in der

Androstendionfraktion $.7,6 \pm 4,5$ % der Gesamtaktivität fanden wir in der Fraktion vor dem Androstendion. Der Rest der Aktivität verteilte sich sowohl bei der Reinsubstanz als auch bei den Leerwerten auf die übrigen Fraktionen.

Fraktion	Reinsubstanzen (n=5)			Leerwerte (n=32)		
Vorzone	0,9	$\pm$	0,7 %	0,2	$\pm$	0,2 %
5 α ,3 α -Adiol	1,1	$\pm$	1,0 %	0,1	$\pm$	0,0 %
5 β ,3 α -Adiol	0,4	$\pm$	0,3 %	0,1	$\pm$	0,0 %
5 α ,3 β -Adiol	0,6	$\pm$	0,4 %	0,1	$\pm$	0,0 %
5 α ,3 α -A	2,0	$\pm$	1,9 %	0,2	$\pm$	0,0 %
5 β ,3 α -A	0,6	$\pm$	0,5 %	0,3	$\pm$	0,0 %
5 β -DHT	1,1	$\pm$	0,9 %	0,1	$\pm$	0,0 %
5 α -DHT	1,2	$\pm$	0,5 %	4,1	$\pm$	3,0 %
e-T	2,0	$\pm$	0,5 %	1,6	$\pm$	1,0 %
T	2,2	$\pm$	1,7 %	2,9	$\pm$	2,1 %
Zwischenzone	0,7	$\pm$	0,6 %	0,7	$\pm$	0,7 %
5 β -Adion	0,9	$\pm$	0,5 %	0,4	$\pm$	0,5 %
5 α -Adion	1,1	$\pm$	0,5 %	0,7	$\pm$	0,4 %
Zwischenzone	4,5	$\pm$	2,0 %	7,6	$\pm$	3,5 %
Δ^4 -A	80,1	$\pm$	9,5 %	82,2	$\pm$	4,5 %

Tab.2: Verteilung der Radioaktivität nach Silylierung von 1,2-³H-Androstendion als Reinsubstanz (n=5) und nach Inkubation, dieser Substanz ohne Lebergewebe (Leeransatz, n=32)

Die Verteilung der Radioaktivität nach Silylierung und Gaschromatographie von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion als Reinsubstanz und nach Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie dieser Substanzen ohne Lebergewebe ist in Abbildung 4 dargestellt.

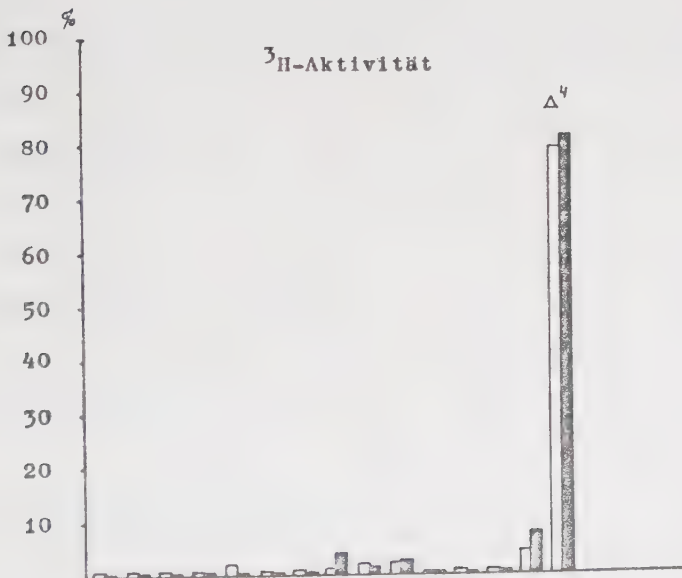
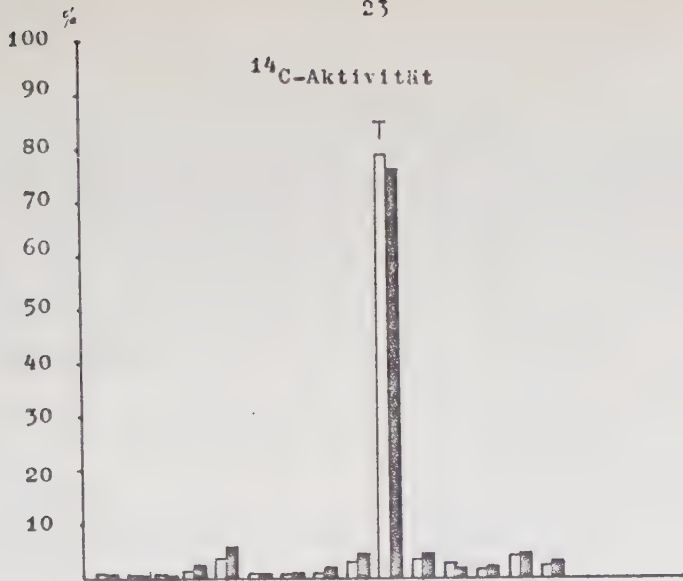


Abb.4: Verteilung der Radioaktivität nach Silylierung und Gaschromatographie von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion als Reinsubstanz (weiße Säulen) und nach Inkubation, Extraktion, Silylierung und Gaschromatographie dieser Substanzen ohne Lebergewebe (schwarze Säulen)

Von DORFMAN und anderen Autoren wurde gezeigt, daß Bakterien steroidabbauende Enzymsysteme besitzen und z.B. Testosteron zu metabolisieren vermögen (1;22). Da bei unseren Untersuchungen in den einzelnen Fraktionen im Leeransatz zwischen 0,1 und 5,3 % Radioaktivität gefunden wurde, lag es nahe zur Orientierung die Keimzahl im Ansatz und die Keimart zu bestimmen. Wir fanden nach 4-stündiger Inkubation Keimzahlen von 0 - 8000/ml Inkubat, nach 24-stündiger Inkubation bis zu 10 Millionen /ml Inkubat. Die Keime gehörten der Pseudomonasgruppe an.

3) Bestimmung der Wiederfindungsraten nach den einzelnen Schritten der Methode:

Zur Bestimmung der bei den einzelnen Arbeitsgängen der Methode auftretenden Verluste entnahmen wir nach jedem Schritt mit und ohne Lebergewebe einen aliquoten Teil, maßen die darin enthaltene Radioaktivität und setzten sie in Beziehung zur anfangs zugesetzten Gesamtaktivität. Wie die Abbildung 5 zeigt, treten, außer bei der Gaschromatographie, dem letzten Schritt der Methode, nur geringe Verluste auf. In der wässrigen Phase, die bei den Versuchen verworfen wurden sind nur 0,02 bis 0,05 % der Gesamtaktivität. Nach der Extraktion mit Äthanol und der gleichzeitigen Reinigung des Extraktes an Aluminiumoxyd sind noch 87 - 97 % der Aktivität vorhanden, der Verlust beträgt also hier zwischen 13 und 3 %. Bei der Gaschromatographie wird der Extrakt zur Registrierung der Retentionszeiten im Verhältnis 1 : 5 geteilt. 1/6 des Extraktes wird durch den Flammenionisationsdetektor geleitet und geht somit für die Messung der Radioaktivität verloren. 5/6 des Extraktes werden fraktioniert und an mit Watte gefüllte Glasröhrchen kondensiert. Die Watte und die Glasröhrchen werden anschließend mit Äthanol und Szintillationsflüssigkeit durchgespült. Die bei diesem Vorgang aus der Watte und von den Röhrchen eluierte Radioaktivität wird gemessen. Berücksichtigt man die Verluste am Detektor so sind nach der Gaschromatographie, sowie der Elution aus der Watte und von den Glasröhrchen noch 64 - 90 % der Gesamtaktivität vorhanden. Bei der Gaschromatographie gehen also 36 - 10 % der Gesamtaktivität verloren.

RECOVERY - VERSUCHE

	1 μg ($4\text{-}^{14}\text{C}$)-T		Inkubation			
			ohne Leber		mit Leber	
	I	II	I	II		
INKUBATION	100	100	100	100	%	
EXTRAKTION (Florisilsäule)	wässrige Phase: 0,02 - 0,05 %					
REINIGUNG (Al_2O_3 -Säule)	93,5	97,0	96,0	87,0	%	
GASCHROMATOGRAPHIE (1% XE-60)						
Kondensation	66,5	74,5	61,0	53,5	%(5/6	
Detektor	13,0	15,2	12,0	10,5	%(1/6	
Gesamt recovery	78,5	89,7	73,0	64,0	%(6/6	

Abb.5: Wiederfindung der ^{14}C -Aktivität nach den einzelnen methodischen Schritten, gezeigt an zwei Versuchen mit Lebergewebe und den entsprechenden Leeransätzen

II. Diskussion der Methode

1) Gaschromatographie:

Eine Reihe von Arbeiten hat gezeigt, daß die Gaschromatographie als Methode zur Trennung von C-19-Steroiden anderen chromatographischen Verfahren zumindest ebenbürtig, wenn nicht sogar überlegen ist. Die Bedingungen, d.h. das verwendete Säulenmaterial, die Temperatur, das Trägergas und die eingesetzten Verbindungen der Steroide (entweder als freie Steroide, als Trimethylsilyläther oder als Dimethylsilyläther) wurden von den verschiedenen Autoren unterschiedlich gehandhabt. Es war daher nötig, in einem bestimmten System (Säulenmaterial: 1% XE-60 auf Gaschrom Q; Trägergas: N₂; Arbeitstemperatur: 200°C; Verwendung von Trimethylsilyläthern; Nachweis durch Flammenionisationsdetektor) zu testen, inwieweit sich ein Gemisch von C-19-Steroiden (Androgenen), die als Metaboliten von Testosteron in Frage kommen (10 - 16) trennen läßt. Für 8 von 12 Steroiden war dies der Fall (s.S.19), insbesondere 5 β -Androstandiol, Ätiocholanolon, Epitestosteron, Testosteron und Androstendion waren eindeutig voneinander und von allen übrigen getesteten Steroiden getrennt. Nur Androstandiol konnte von 5 β , 3 β -Androstandiol ebenso wenig getrennt werden wie Androsteron von 5 β , 3 β -Androsteron und Androst-4,16-dien-3-on. Keine eindeutige Trennung ließ sich für 5 α - und 5 β -Androstendion erreichen. Die oben erwähnten 12 Steroide setzten wir jedem Versuchsansatz als interne Standards zu.

Hydroxylierte Verbindungen von Testosteron und Androstendion, wie sie ebenfalls in der Literatur als Metaboliten von Testosteron beschrieben wurden, wurden als Leitsubstanzen bei den Versuchen nicht zugesetzt, wir bestimmten jedoch ihre relativen Retentionszeiten. 6 β -OH-Androstendion erscheint kurz vor Androstendion, 16 α -Androstendion kurz danach. 6 β -OH-Testosteron hat eine etwas kürzere Retentionszeit als Testosteron, es erscheint in der Fraktion zwischen Epitestosteron und Testosteron. 16 α -OH-Testosteron erscheint kurz nach 5 α -Androstendion, bei uns als Zwischenzone fraktioniert. Ein weiterer beschriebener Metabolit von Testosteron Androst-4,16-dien-3-on konnte nicht von Androsteron getrennt werden.

2) Beständigkeit der radioaktiven Steroide

Die von uns bei jedem Versuchsansatz mit Lebergewebe parallel durchgeführte Inkubation der radioaktiven Steroide 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion ohne Lebergewebe (Leeransätze) ergaben, daß nach Inkubation, Extraktion, Reinigung, Silylierung und Gaschromatographie von 34 Leeransätzen noch $76,2 \pm 7,5 \%$ der ¹⁴C-Aktivität in der Fraktion von Testosteron, bzw. von 32 Leeransätzen noch $82,2 \pm 4,5 \%$ der ³H-Aktivität in der Fraktion von Androstendion waren. Ein Vergleich mit je 5 Versuchen, bei denen die radioaktiven Steroide ohne Inkubation, Extraktion und Reinigung direkt silyliert und gaschromatographisch aufgetrennt wurden, zeigt, daß auch unter diesen Bedingungen nur $78,8 \pm 6,0 \%$ der ¹⁴C-Aktivität in der Fraktion von Testosteron, bzw. $80,1 \pm 9,5 \%$ der ³H-Aktivität in der Fraktion von Androstendion waren. Eine vollständige Konzentrierung der Radioaktivität der Reinsubstanzen 4-¹⁴C-Testosteron bzw. 1,2-³H-Androstendion in der Fraktion der jeweiligen Reinsubstanz ist offenbar grundsätzlich nicht möglich. Dieser Befund entspricht den von CHAMBAZ et al. beschriebenen Ergebnissen. Diese Autoren haben in ausführlichen Versuchen gezeigt, daß bei der Gaschromatographie von TMSi-Derivaten von Testosteron konstante, separate Massenpeaks auftreten, die sich in ihrer Retentionszeit zum Teil erheblich von Testosteron unterscheiden. Die diesen Peaks entsprechenden Substanzen wurden mittels Massenspektrographie als Enoläther bzw. als di-TMSi-Derivate von Testosteron identifiziert. Ein Teil des Testosteron (etwa 4%) dürfte unsilyliert bleiben, da ein entsprechender Anteil an Radioaktivität mit gleicher Retentionszeit wie unsilyliertes Testosteron erscheint.

Androstendion selbst kann nicht silyliert werden, da es keine Hydroxylgruppen besitzt. Unter dem Einfluß des Silylierungsmittels können jedoch in geringer Menge Enoläther entstehen, die kürzere Retentionszeiten aufweisen als Androstendion (23).

Da die Wiederfindung der Radioaktivität in den Fraktionen der entsprechenden radioaktiv markierten Steroide bei den Leerwerten und den Reinsubstanzen gleich ist, kann man daraus schließen, daß während der 0,5, 2,0 oder 6,0 Stunden dauernden Inkubation und

der anschließenden Aufarbeitung des Extraktes keine Zerstörung von Testosteron bzw. von Androstendion auftritt. Aus der gleichen Verteilung der Radioaktivität bei den Leerwerten und den Reinstoffen kann man schließen, daß im Ansatz kein nennenswerter Stoffwechsel von Testosteron bzw. Androstendion durch Bakterien stattfindet.

3) Wiederfindung der Radioaktivität

Das Prinzip der Extraktion des Inkubates mit Florisil beruht auf der Eigenschaft des Florisil, freie Steroide aus einer wässrigen Lösung zu adsorbieren. Bei unseren Versuchen fanden wir im wässrigen Durchlauf sowohl bei den Versuchsansätzen, als auch bei den Leerwerten weniger als 1% der Gesamtaktivität von Testosteron bzw. Androstendion. Das bedeutet, daß mehr als 99 % der gesamten Radioaktivität bei einmaligem Durchlauf im Florisil retiniert wird. Bei der anschließenden Elution mit Äthanol und der Reinigung des Eluates an Aluminiumoxyd gehen 3 - 13 % der Radioaktivität verloren. Ein Teil dieser Aktivität kann durch größere Mengen Äthanol noch aus dem Florisil bzw. dem Aluminiumoxyd ausgewaschen werden, dann nimmt aber auch die Verunreinigung des Extraktes erheblich zu. Die stärkere Verunreinigung macht sich vor allem bei der Gaschromatographie störend bemerkbar. Bei der Gaschromatographie traten die größten Verluste auf. An den Watteröhrchen des Fraktionskollektors waren 53,5 - 74,5 % der Gesamtradioaktivität nachzuweisen. Auch unter Berücksichtigung des notwendigen Verlustes an Radioaktivität durch die Registrierung der Retentionszeiten im Detektor betrug die Gesamt Recovery zwischen 64,0 und 89,7 %. Die wahrscheinlichste Erklärung für diese Verluste ist die, daß die gasförmigen Steroide nicht vollständig an die Watte und die Glasöhrchen kondensiert wird. Das liegt vor allem daran, daß bei der Fraktionierung bei jedem Peak ein Wechsel des Kondensationsöhrchen vorgenommen werden muß. Durch die Mechanik bedingt kommt es dabei zu einer kurzen Unterbrechung der Kondensation, während der der Gasstrom frei in die Luft ausströmt. Ein derartiger Wechsel des Kondensationsöhrchens erfolgte pro Ansatz 14-mal. Der Verlust kann durch eine Summation der einzelnen kleinen Verluste ausreichend erklärt werden. Eine Gesamt Recovery von 64 - 89 % kann jedoch als gut bezeichnet werden.

III. Ergebnisse der Versuche mit Lebergewebe

- 1) Abbau und Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch perkutan und operativ gewonnenes Lebergewebe vom Menschen. Orientierende Versuche mit Rattenlebergewebe.

a) Abbau von Testosteron und Androstendion durch perkutan gewonnenes Lebergewebe:

In Vorversuchen wurde geklärt, ob die Enzymaktivitäten in so geringen Lebergewebemengen (5 - 15 mg), wie sie durch perkutane Biopsie gewonnen werden können, ausreichen, um einen meßbaren Umsatz von Testosteron und Androstendion zu bewirken. Perkutan gewonnenes Lebergewebe mit normaler Histologie (n=7 Männer) wurde deshalb mit $1,15 \mu\text{g } 4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $0,0057 \mu\text{g } 1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion 6,0 Stunden in 10 ml Krebs-Ringer-Natriumbikarbonatpuffer (pH 7,38) in Carbogenatmosphäre inkubiert. Allen Versuchen waren Cofaktoren (s.S.8) zugesetzt.

Bezogen auf die wiedergefundene Gesamtaktivität waren bei diesen Versuchen noch 25,8 - 42,3 % der Radioaktivität in der Fraktion von Testosteron. Somit wurden zwischen 74,2 und 57,7 % des zugesetzten Testosterons metabolisiert.

In der Fraktion von Androstendion waren bei den gleichen Versuchen noch 14,1 - 75,1 % der ^3H -Gesamtaktivität nachweisbar. Der Metabolismus von Androstendion lag also zwischen 24,9 und 85,1 %. Wie die Ergebnisse zeigen ist es möglich durch Inkubation von kleinen Lebergewebeproben, die durch perkutane Punktion gewonnen werden, mit Testosteron und Androstendion einen Metabolismus in andere Steroide nachzuweisen.

b) Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch perkutan gewonnenes Lebergewebe

Histologisch normales Lebergewebe von 7 Männern wurde wie unter 1a erwähnt inkubiert.

In der Testosteronfraktion waren bei diesen Versuchen noch $32,8 \pm 7,2$ % der Gesamtradioaktivität nachweisbar.

Größere Radioaktivitätsmengen fanden sich zu etwa gleichen Teilen in den Fraktionen von Ätiocholanolon im Mittel $15,9 \pm 5,9$ %, Androstendion im Mittel $15,3 \pm 10,7$ % und 5 β -Androstandiol im Mittel $12,8 \pm 9,7$ %. In den Fraktionen der anderen aufgeführten Verbindungen waren geringere Radioaktivitätsmengen. Im einzelnen

fanden wir in der Fraktion von 5 β -DHT $5,0 \pm 1,5$ %, in der von 5 β -Androstandion $2,5 \pm 1,5$ %. Die Radioaktivität in den Fraktionen der 5 α -hydrierten Verbindungen war jeweils niedriger als in den Fraktionen der entsprechenden 5 β -hydrierten Steroide. So waren in der Fraktion von Androsteron $1,5 \pm 0,6$ %, in der von Androstandiol $2,8 \pm 3,6$ %, in der von 5 α -DHT $2,0 \pm 0,6$ % und in der von 5 α -Androstandion $1,1 \pm 0,3$ % der Gesamtradioaktivität. In der Fraktion zwischen 5 α -Androstandion und Androstendion waren $2,3 \pm 1,5$ % der Gesamtradioaktivität. Diese Fraktion enthält unter anderem zwei hydroxylierte Verbindungen: 16 α -OH-Testosteron und 6 β -OH-Androstendion.

Die Verteilung der ^3H -Aktivität war ähnlich wie die der ^{14}C -Aktivität. $43,2 \pm 22,6$ % der Gesamtradioaktivität waren noch in der Androstendionfraktion. Abgebaut wurden demnach durchschnittlich 56,8 % des zugesetzten Androstendion.

Die Fraktion von Ätiocholanolon wies mit $30,8 \pm 11,2$ % einen hohen Anteil an der ^3H -Aktivität auf. Die Anteile der Fraktionen von 5 β -Androstandiol $3,7 \pm 2,4$ %, Testosteron $6,9 \pm 3,8$ %, 5 β -DHT $3,9 \pm 2,4$ % und 5 β -Androstandion lagen niedriger. In der Fraktion der hydroxylierten Verbindungen 16 α -OH-Testosteron und 6 β -OH-Androstendion waren $2,1 \pm 1,4$ % der Gesamtradioaktivität.

Wie auch bei der Verteilung der ^{14}C -Aktivität, waren auch bei der ^3H -Aktivität in den Fraktionen der 5 α -hydrierten Verbindungen geringere Aktivitätsmengen als in den Fraktionen der entsprechenden 5 β -hydrierten Verbindungen. Im einzelnen fanden wir in den Fraktionen von Androsteron $1,8 \pm 0,9$ %, Androstandiol $1,5 \pm 1,2$ %, 5 α -DHT $1,6 \pm 0,9$ % und 5 α -Androstandion $1,3 \pm 0,6$ % der Gesamtradioaktivität.

Eine Zusammenstellung der Ergebnisse zeigt Tabelle 3.

c) Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch operativ gewonnenes Lebergewebe vom Menschen:

Zwei Versuche wurden mit größeren, operativ gewonnenen Lebergewebestückchen durchgeführt. Das Gewicht der eingesetzten Gewebestücke von einem Mann und einer Frau betrug 38 bzw. 35 mg. Der Abbau von Testosteron lag mit 66,6 bzw. 83,4 % in der gleichen Größenordnung wie bei den Versuchen mit perkutan gewonnenem Lebergewebe.

In der Fraktion von Androstendion fanden wir nur einen geringen Anteil der ^{14}C -Aktivität (0,4 % bzw. 7,5%).

Fraktion	^{14}C -Aktivität	^3H -Aktivität
Vorzone	0,3 $\pm$ 0,1 %	0,8 $\pm$ 0,7 %
5 α ,3 α -Adiol	2,8 $\pm$ 3,6 %	1,5 $\pm$ 1,2 %
5 β ,3 α -Adiol	12,8 $\pm$ 9,7 %	3,7 $\pm$ 2,4 %
5 α ,3 β -Adiol	2,7 $\pm$ 2,7 %	1,3 $\pm$ 0,6 %
5 α ,3 α -A	1,6 $\pm$ 0,6 %	1,8 $\pm$ 0,9 %
5 β ,3 α -A	15,9 $\pm$ 5,9 %	30,8 $\pm$ 11,2 %
5 β -DHT	5,0 $\pm$ 1,5 %	3,9 $\pm$ 2,4 %
5 α -DHT	2,0 $\pm$ 0,6 %	1,6 $\pm$ 0,9 %
e-T	1,3 $\pm$ 0,7 %	1,5 $\pm$ 1,3 %
T	32,8 $\pm$ 7,2 %	6,9 $\pm$ 3,8 %
Zwischenzone		
5 β -Adion	2,5 $\pm$ 1,5 %	3,8 $\pm$ 2,0 %
5 α -Adion	1,1 $\pm$ 0,3 %	1,3 $\pm$ 0,6 %
Zwischenzone	2,3 $\pm$ 1,5 %	2,1 $\pm$ 1,4 %
Δ^4 -A	15,3 $\pm$ 10,7 %	43,2 $\pm$ 22,6 %

Tab.3: Verteilung der Radioaktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit normalem Lebergewebe von 7 Männern. Inkubationsdauer 6,0 Stunden.
(Mittelwerte und einfache Standardabweichung der prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen an der Gesamtaktivität)

Die größten Anteile an der Gesamtradioaktivität waren bei diesen Versuchen in den Fraktionen von Ätiocholanolon (38,5♂ bzw. 27,4% ♀) und 5ß-Androstandiol (11,6♂ bzw. 25,6 % ♀). In allen anderen Fraktionen fanden wir geringere Mengen der Radioaktivität in der Größenordnung von 0,4 - 3,7 %, gleichzeitig überwogen die 5ß-hydrierten die 5α-hydrierten Steroide.

Die Verteilung der ^3H -Aktivität war wie folgt:

In der Fraktion von Androstendion waren noch 75,9 % (♂) und 15,6 % (♀) der Gesamtaktivität.

In der Fraktion von Ätiocholanolon wurde mit 15,4 % (♂) bzw. 47,9 % (♀) der größte Anteil an der Radioaktivität gefunden.

In der Fraktion von 5ß-Androstandiol waren 3,6 % (♂) bzw. 13,8 % (♀).

In der Testosteronfraktion konnte nur bei einem der Versuche (♀) Aktivität gefunden werden (2,7 %). In allen übrigen Fraktionen waren die Radioaktivitätsmengen geringer (0,1 - 3,7 %).

Die Einzelergebnisse dieser beiden Versuche sind in den Tabellen 4 und 5 im Vergleich mit den Mittelwerten und der Standardabweichung von 7 Versuchen mit perkutan gewonnenem Lebergewebe von Männern zusammengefaßt.

Fraktion	perkutan (n=7)		operativ	
			♂	♀
5 α ,3 α -Adiol	2,8	$\pm$ 3,6 %	2,5 %	2,9 %
5 β ,3 α -Adiol	12,8	$\pm$ 9,7 %	11,6 %	25,6 %
5 α ,3 β -Adiol	2,7	$\pm$ 2,7 %	0,9 %	2,8 %
5 α ,3 α -A	1,6	$\pm$ 0,6 %	2,3 %	1,7 %
5 β ,3 α -A	15,9	$\pm$ 5,9 %	38,5 %	27,4 %
5 β -DHT	5,0	$\pm$ 1,5 %	2,0 %	2,1 %
5 α -DHT	2,0	$\pm$ 0,6 %	0,7 %	2,5 %
e-T	1,3	$\pm$ 0,7 %	0,5 %	2,9 %
T	32,8	$\pm$ 7,2 %	33,4 %	16,6 %
5 β -Adion	2,5	$\pm$ 1,5 %	2,0 %	3,7 %
5 α -Adion	1,1	$\pm$ 0,3 %	0,4 %	1,1 %
Δ^4 -A	15,3	$\pm$ 10,7 %	0,4 %	7,5 %

Tab.4: Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 7 Männern und mit operativ gewonnenem Lebergewebe von einem Mann und einer Frau (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden) (Mittelwerte und einfache Standardabweichung der prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen an der Gesamtradioaktivität, bzw. Einzelwerte)

Fraktion	perkutan (n=7)	operativ	
		♂	♀
5 α ,3 α -Adiol	1,5 $\pm$ 1,2 %	0,7 %	2,0 %
5 β ,3 α -Adiol	3,7 $\pm$ 2,4 %	3,6 %	13,8 %
5 α ,3 β -Adiol	1,3 $\pm$ 0,6 %	0,2 %	1,7 %
5 α ,3 α -A	1,8 $\pm$ 0,9 %	1,0 %	1,7 %
5 β ,3 α -A	30,8 $\pm$ 11,2 %	15,4 %	47,9 %
5 β -DHT	3,9 $\pm$ 2,4 %	0,6 %	1,8 %
5 α -DHT	1,6 $\pm$ 0,9 %	0,1 %	1,4 %
e-T	1,5 $\pm$ 1,3 %	0,1 %	2,0 %
T	6,9 $\pm$ 3,8 %	0,0 %	2,7 %
5 β -Adion	3,8 $\pm$ 2,0 %	0,5 %	3,7 %
5 α -Adion	1,3 $\pm$ 0,6 %	0,2 %	1,3 %
Δ^4 -A	43,2 $\pm$ 22,6 %	75,9 %	15,6 %

Tab.5: Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 7 Männern und mit operativ gewonnenem Lebergewebe von einem Mann und einer Frau
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)
(Mittelwerte und einfache Standardabweichung der prozentualen Anteile der einzelnen Fraktionen an der Gesamtradioaktivität, bzw. Einzelwerte)

d) Zum Vergleich : orientierende Versuche mit Lebergewebe von Ratten:

Um zu klären, ob sich unter den gegebenen Versuchsbedingungen der Stoffwechsel durch Lebergewebe vom Menschen von dem durch Lebergewebe von Ratten unterscheidet, inkubierten wir zum Vergleich Rattenlebergewebe.

In einem Mehrfachversuch inkubierten wir 15 - 30 mg schwere Lebergewebestückchen einer weiblichen Ratte mit 4-¹⁴C-Testosteron. In der Fraktion von Testosteron waren nach 6-stündiger Inkubation noch 17,1 % der Gesamtaktivität.

Der größte Anteil der Radioaktivität fand sich hier in der Fraktion zwischen Ätiocholanolon und 5 β -DHT (33,9 %). In dieser Fraktion läuft, wie wir in unseren Vorversuchen zeigten, Epianrosteron. Auch in der Fraktion von 5 α -DHT war mit 6,3 % ein relativ großer Anteil an der Gesamtaktivität. Wenig Aktivität fanden wir Fraktionen von 5 β -hydrierten Verbindungen. Im einzelnen waren in der Fraktion von 5 β -Androstandiol 3,4 %, von Ätiocholanolon 0,4 % und in der Fraktion von 5 β -DHT 3,6 % der Gesamtradioaktivität. Relativ viel Aktivität (19,4 %) war in der Fraktion zwischen 5 α -Androstandion und Androstendion. In dieser Fraktion erscheinen wie hingewiesen wurde (s.S.20), zwei hydroxylierte Verbindungen. Die Verteilung der Aktivität im einzelnen ist in Tabelle 6 zusammengestellt.

2) Einfluß verschiedener Inkubationsbedingungen auf den Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion:

Um Anhaltspunkte über den Einfluß der Inkubationsdauer auf den Stoffwechsel von Testosteron zu erhalten, wurden 10 mg Lebergewebe mit 1,00 μ g 1,2-³H-Testosteron in 20 ml Inkubationsmedium inkubiert. Nach 0,25; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0 und 6,0 Stunden wurden je 2,0 ml des Inkubationsmediums entnommen und in der üblichen Weise aufgearbeitet. Das Lebergewebe selbst wurde nach 6 Stunden gesondert ebenfalls in üblicher Weise aufgearbeitet. Tabelle 7 zeigt die Verteilung der Radioaktivität nach den oben angegebenen Inkubationszeiten. Abbildung 6 zeigt den Abfall der Radioaktivität in der Fraktion von Testosteron und den Anstieg der Radioaktivität in den Fraktionen von Androstendion, 5 β -Androstandiol und 5 β -Androsteron.

Fraktion	% der Gesamtaktivität
5 α ,3 α -Adiol	0,1
5 β ,3 α -Adiol	3,4
5 α ,3 β -Adiol	0,4
5 α ,3 α -A	0,2
5 β ,3 α -A	0,4
Zwischenzone	33,9
5 β -DHT	3,6
5 α -DHT	6,3
e-T	0,6
T	17,1
5 β -Adion	0,4
5 α -Adion	0,4
Zwischenzone	19,4
Δ^4 -A	1,2

Tab.6: Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -
 Testosteron mit Lebergewebe einer weiblichen, geschlechts-
 reifen Ratte
 (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Die Kurve des Abbaues von Testosteron verläuft annähernd linear, ebenso der Anstieg der Aktivität in der Fraktion von Androstendion. Bei den beiden 5 β -hydrierten Metaboliten 5 β -Androstandiol und 5 β -Androsteron steigt dagegen die Radioaktivität zuerst an und bildet nach etwa 1,5 Stunden ein Plateau. Wie die Tabelle 7 zeigt, ist immer in den Fraktionen der 5 β -hydrierten Metaboliten mehr Radioaktivität lokalisiert als in den Fraktionen der 5 α -hydrierten Metaboliten. Ebenfalls konnte gezeigt werden, daß die Verteilung der Radioaktivität im Inkubationsmedium und im Lebergewebe gleich ist.

Außer diesem Zeitversuch führten wir noch unter den gleichen Versuchsbedingungen Untersuchungen mit Inkubationszeiten von 0,5 und 2,0 Stunden durch.

Nach 0,5 Stunden waren noch zwischen 41,1 und 93,1 % der Gesamtaktivität in der Testosteronfraktion nachweisbar, nach 2,0 Stunden noch 32,8 - 85,6 %. Die Verteilung der Radioaktivität der einzelnen Versuche unterschied sich nicht von der nach 6 Stunden Inkubation. Tabelle 8 zeigt die Abbauraten von 4-¹⁴C-Testosteron durch perkutan gewonnenes Lebergewebe nach 0,5 bzw. 2,0 Stunden Inkubation.

Versuch	1	2	3	4	5	6	7	8
Zeit								
0,5	13,7	6,9	48,3	58,9	37,4	23,8	50,9	8,6
2,0	14,4	67,2	38,9	51,8	54,2	60,0	40,7	16,0

Tab.8: Abbau von 4-¹⁴C-Testosteron nach Inkubation mit perkutan gewonnenem Lebergewebe vom Menschen.
(Inkubationsdauer 0,5 bzw. 6,0 Stunden)

Der Abbau von Testosteron war mit durchschnittlich 31,1 % nach 0,5 bzw. 40,0 % nach 2,0 Stunden Inkubation niedriger als nach 6,0 Stunden mit durchschnittlich 67,2 %. Das war vorauszusehen, aber außerdem ist die Höhe des Abbaues bei den einzelnen Versuchen sehr unterschiedlich. Dies scheint sich nach 6,0 Stunden ausgeglichen zu haben. Man kommt deshalb nach 6,0 Stunden zu vergleichbareren Ergebnissen.

Um zu klären, ob der Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion beeinflußt wird, wenn beide Hormone gleichzeitig in den Ansatz gegeben werden, haben wir entweder 1,15 μ g 4-¹⁴C-Testosteron oder 0,0057 μ g 1,2-³H-Androstendion in je einem Ansatz mit gleichen Versuchsbedingungen mit Lebergewebe inkubiert.

Zeit (Std)	0,25	0,5	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0
Fraktion								
5 α ,3 α -Adiol	0,09	0,15	0,18	0,43	0,45	0,63	0,98	0,92
5 β ,3 α -Adiol	1,02	3,32	6,08	5,51	5,47	6,53	6,73	4,73
5 α ,3 β -Adiol	0,48	0,56	0,00	0,32	0,39	0,43	0,53	0,55
5 α ,3 α -A	0,22	0,41	1,41	0,73	0,18	0,00	0,47	0,78
5 β ,3 α -A	0,23	0,80	0,77	1,03	1,13	3,57	2,73	3,41
5 β -DHT	0,14	0,35	1,19	1,36	0,53	0,53	0,87	1,52
5 α -DHT	0,10	0,74	0,08	0,28	0,03	0,10	0,19	0,39
e-T	0,00	0,39	2,54	0,86	0,24	0,00	0,87	0,68
T	92,82	90,79	83,98	79,80	81,29	76,39	71,64	54,14
5 β -Adion	1,39	0,39	0,00	0,10	0,03	0,00	0,66	0,35
5 α -Adion	1,30	0,24	0,00	0,33	0,17	0,00	0,38	0,73
Δ^4 -A	1,12	0,64	2,85	4,89	4,21	9,02	11,68	22,64

Tab.7: Verteilung der Radioaktivität nach Inkubation von 1,00 μg 1,2- ^3H -Testosteron mit 10 mg perkutan gewonnenem Lebergewebe in 20 ml Krebs-Ringer-Natriumbikarbonatpuffer. Entnahme und Aufarbeitung von je 2,0 ml nach 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0 und 6,0 Stunden.

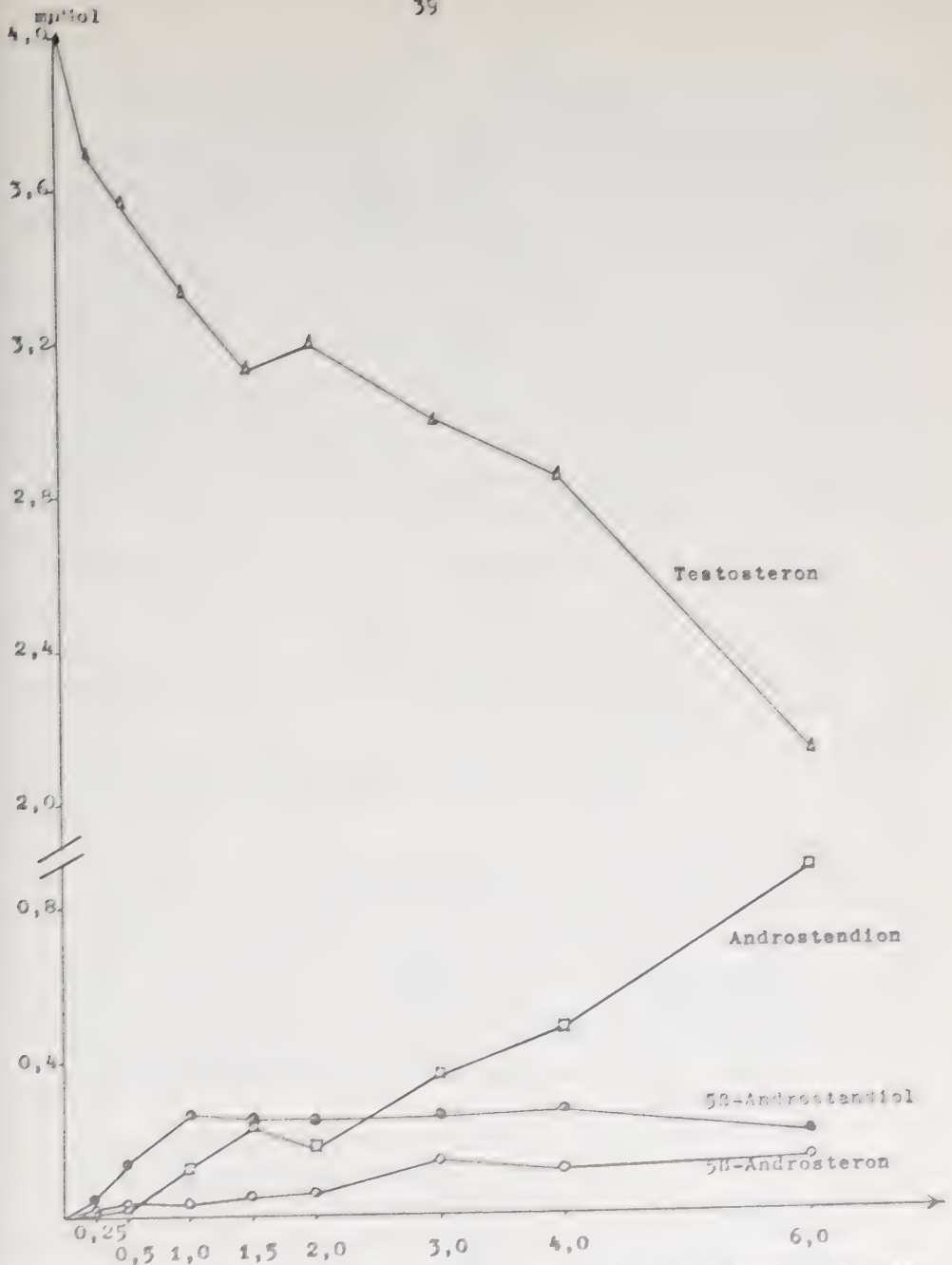


Abb. 3: Abbau von 1,2- ^3H -Testosteron und Anstieg der Radioaktivität in den Fraktionen von Androstendion, 5 β -Androstan-3 α ,17 β -diol und 5 β -Androsteron nach Inkubation mit Lebergewebe vom Menschen. (Zeitversuch)

Bei zwei Versuchen mit Testosteron fanden wir noch 52,6 bzw. 15,4 % der Gesamtradioaktivität in der Testosteronfraktion.

Die Verteilung der Radioaktivität ist in Tabelle 9 im Vergleich mit 4 Versuchen mit Lebergewebe von Frauen, bei denen wir 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion gleichzeitig zugegeben hatten, gezeigt. Eine Änderung der Radioaktivitätsverteilung durch die gleichzeitige Zugabe von Androstendion bei den 4 Versuchen mit normalem Lebergewebe von Frauen gegenüber den zwei Versuchen mit Testosteron allein ist nicht festzustellen.

Der Abbau von Androstendion war bei dem Versuch mit alleiniger Zugabe dieses Substrates höher als bei den 4 Vergleichsversuchen mit Testosteron und Androstendion in einem Ansatz. Eine Änderung der Radioaktivitätsverteilung konnte, wie Tabelle 10 zeigt, auch hier nicht festgestellt werden.

3) Der Abbau von Testosteron über den 17 β -Hydroxy- und den 17-Keto-Weg:

Seit den in vivo Untersuchungen von BAULIEU et al. (17) ist bekannt, daß Testosteron auf zwei Wegen abgebaut werden kann, dem 17-Keto- bzw. dem 17 β -Hydroxy-Weg.

Wir wollten durch Zusatz von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion in einem Ansatz untersuchen, ob Lebergewebe Testosteron auch unter in vitro-Bedingungen auf den beiden genannten Stoffwechselwegen metabolisieren kann.

Auf dem 17-Keto-Weg wird das Testosteronmolekül zuerst an C-17 zu Androstendion dehydriert. Das bei den Versuchen aus 4-¹⁴C-Testosteron gebildete Androstendion ist ebenfalls ¹⁴C-markiert. Die weitere Metabolisierung des Androstendion erfolgt über eine Spaltung der Δ^4 -Doppelbindung. Da im Versuchsansatz auch ³H-markiertes Androstendion ist, sind alle aus Androstendion entstehenden Metaboliten ³H-markiert, die aus Testosteron über Androstendion gebildeten ³H- und ¹⁴C-markiert.

Auf dem 17 β -Hydroxy-Weg tritt dagegen Androstendion nicht als Zwischenprodukt auf, da auf diesem Stoffwechselweg zuerst die Δ^4 -Doppelbindung des Testosteronmoleküls gespalten wird. Die auf dem 17 β -Hydroxyweg gebildeten Metaboliten sind folglich überwiegend ¹⁴C-markiert. Ausschließlich ¹⁴C-markierte Metaboliten kann es nicht geben, da auch ³H-Androstendion in geringem Ausmaß zu Testosteron konvertiert wird und dann wie dieses weiter metabolisiert wird. (s. Abbildung 6)

Zugabe von:

Fraktion	Testosteron + Androstendion (n = 4)	Testosteron	
		1	2
5 α ,3 α -Adiol	0,8 $\pm$ 0,3 %	-, - %	-, - %
5 β ,3 α -Adiol	18,4 $\pm$ 6,9 %	12,3 %	13,1 %
5 α ,3 β -Adiol	3,0 $\pm$ 1,5 %	0,9 %	2,6 %
5 α ,3 α -A	2,9 $\pm$ 1,5 %	1,2 %	5,2 %
5 β ,3 α -A	24,5 $\pm$ 7,4 %	16,2 %	29,6 %
5 β -DHT	4,3 $\pm$ 1,6 %	2,5 %	6,8 %
5 α -DHT	2,1 $\pm$ 1,0 %	1,1 %	3,3 %
e-T	1,7 $\pm$ 0,7 %	0,6 %	2,7 %
T	28,1 $\pm$ 13,8 %	52,6 %	15,4 %
5 β -Adion	1,6 $\pm$ 0,8 %	1,0 %	2,6 %
5 α -Adion	1,5 $\pm$ 0,9 %	0,5 %	3,1 %
Δ^4 -A	6,8 $\pm$ 2,2 %	9,2 %	4,2 %

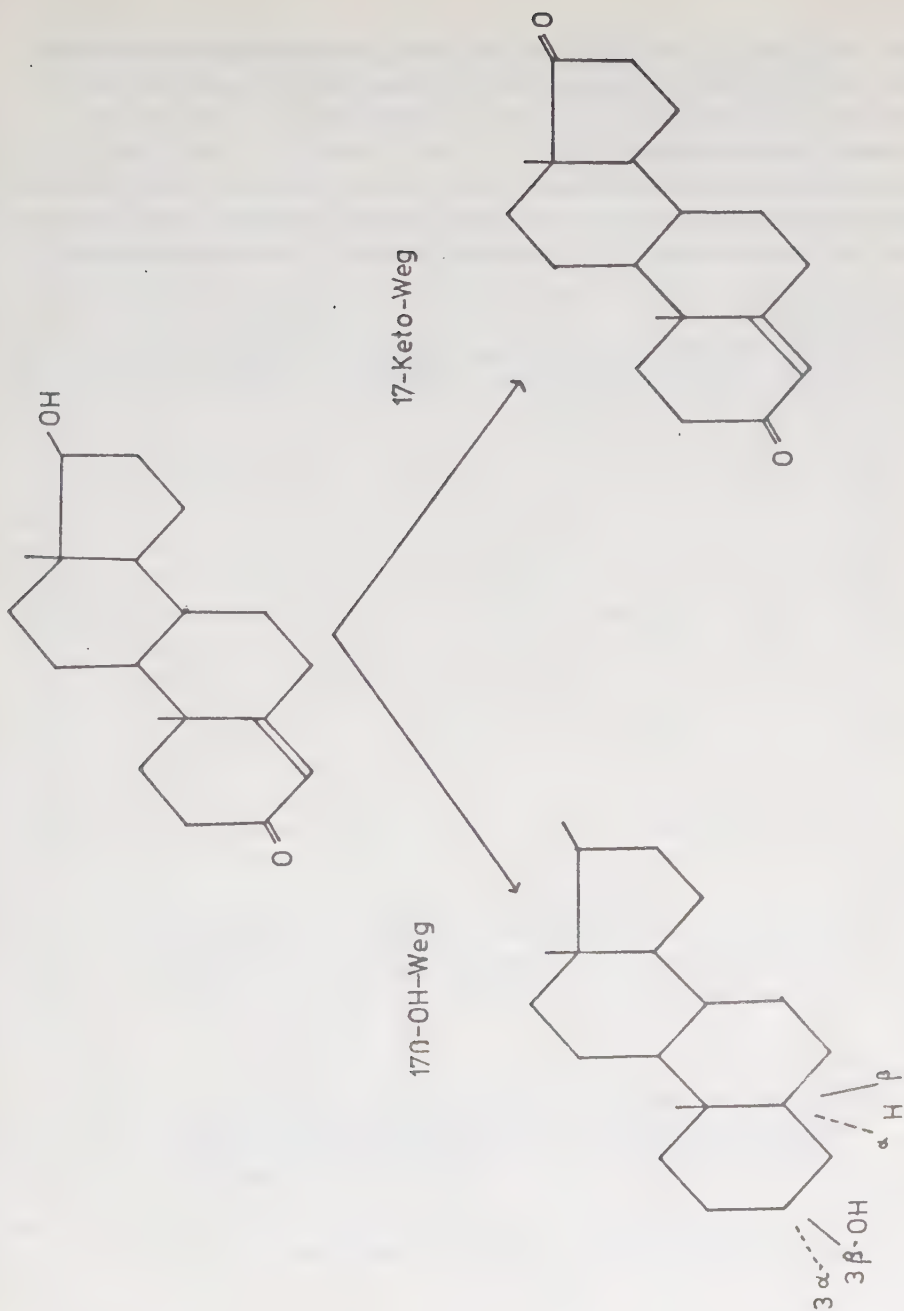
Tab.9: Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe von 4 Frauen bzw. von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron allein mit perkutan gewonnenem Lebergewebe von 2 Frauen.
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Zugabe von:

Fraktion	Testosteron +		Androstendion
	Androstendion		
5 α ,3 α -Adiol	0,6	$\pm$ 0,4 %	0,8 %
5 β ,3 α -Adiol	9,6	$\pm$ 2,8 %	7,5 %
5 α ,3 β -Adiol	2,1	$\pm$ 0,6 %	0,7 %
5 α ,3 α -A	2,3	$\pm$ 1,0 %	2,9 %
5 β ,3 α -A	44,9	$\pm$ 6,6 %	52,9 %
5 β -DHT	3,9	$\pm$ 0,7 %	6,5 %
5 α -DHT	2,0	$\pm$ 1,0 %	1,9 %
e-T	2,3	$\pm$ 0,5 %	2,4 %
T	9,8	$\pm$ 2,0 %	6,3 %
5 β -Adion	2,5	$\pm$ 1,4 %	4,0 %
5 α -Adion	2,1	$\pm$ 0,7 %	4,4 %
Δ^4 -A	13,0	$\pm$ 5,7 %	2,5 %

Tab.10: Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -

Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe von 4 Frauen bzw. von 1,2- ^3H -Androstendion allein mit perkutan gewonnenem Lebergewebe einer Frau (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)



Ist für einen Metaboliten der aus den prozentualen Anteilen der ^3H - und der ^{14}C -Aktivität gebildete Quotient R (s.S. 16) kleiner als 1, so ist das ein Hinweis, daß dieser Metabolit auf dem 17-Ketoweg gebildet wurde.

Wir fanden einen Quotienten kleiner als 1 für die 17-Ketosteroide 5α - und 5β -Androsteron und 5α - und 5β -Androstandion.

Bei folgenden 17 β -Hydroxysteroiden fanden wir einen Quotienten, der größer als 1 war: 5α - und 5β -DHT, $5\alpha, 3\alpha$ -Adiol, $5\beta, 3\alpha$ -Adiol und $5\alpha, 3\beta$ -Adiol.

In Abbildung 7 sind die Werte des Quotienten R der oben genannten 17-Keto- bzw. 17 β -Hydroxysteroido graphisch dargestellt.

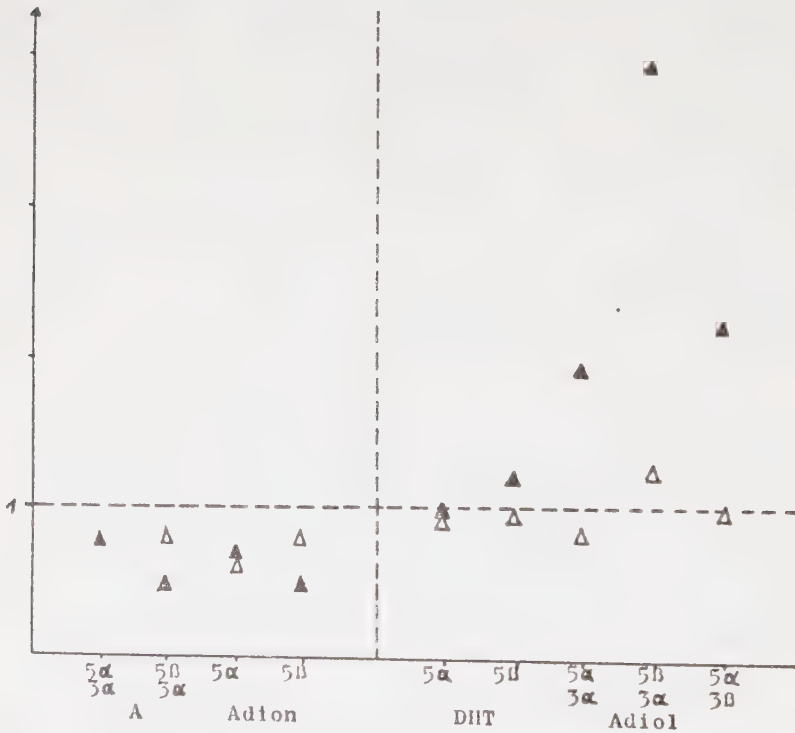


Abb. 7: Werte des Quotienten R nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit Lebergewebe ($n = 2$)

4) Der Metabolismus von Testosteron und Androstendion durch normales Lebergewebe von Männern und Frauen:

Wir untersuchten den Metabolismus von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion durch histologisch normales Lebergewebe von 7 Männern und 6 Frauen. Es sollte geklärt werden, ob ein geschlechts-differenter Abbau von Testosteron durch Lebergewebe stattfindet.

In der Fraktion von Testosteron wurden nach 6-stündiger Inkubation bei den Männern noch $32,8 \pm 13,8 \%$, bei den Frauen noch $28,1 \pm 13,8 \%$ der Gesamtradioaktivität gefunden. Der Abbau von Testosteron lag demnach durch Lebergewebe von Männern ($67,2 \pm 7,2 \%$) und Frauen ($71,9 \pm 13,8 \%$) in der gleichen Größenordnung. Abbildung 8 zeigt den Abbau von Testosteron durch normales Lebergewebe von Männern und Frauen.

In der Fraktion von Androstendion fanden wir bei den Männern mehr ¹⁴C-Aktivität ($15,3 \pm 10,7 \%$) als bei den Frauen ($6,8 \pm 2,2 \%$). Dagegen war nach Inkubation von normalem Lebergewebe von Frauen mehr ¹⁴C-Aktivität in der Fraktion von 5 β -Androstandiol ($18,4 \pm 6,9 \%$), als nach Inkubation von normalem Lebergewebe von Männern ($12,8 \pm 9,7 \%$).

Auch in der Fraktion von 5 β -Androsteron war bei den Frauen der Anteil der ¹⁴C-Aktivität mit $24,5 \pm 7,4 \%$ etwas höher als bei den Männern mit $15,9 \pm 5,9 \%$.

Diese Unterschiede sind jedoch statistisch nicht signifikant.

In den anderen Fraktionen war sowohl bei den Männern, als auch bei den Frauen der Anteil an der ¹⁴C-Aktivität geringer.

Im einzelnen waren in der Fraktion von 5 β -DHT bei den Männern $5,0 \pm 1,5 \%$, bei den Frauen $4,3 \pm 1,6 \%$ der Gesamtaktivität, in der Fraktion von 5 α -DHT bei den Männern $2,0 \pm 0,6 \%$ und den Frauen $2,1 \pm 1,0 \%$ der Gesamtaktivität.

In Tabelle 11 sind die Mittelwerte und die einfache Standardabweichung der prozentualen Verteilung der ¹⁴C-Aktivität nach Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion mit normalem Lebergewebe von 7 Männern und 6 Frauen zusammengestellt.

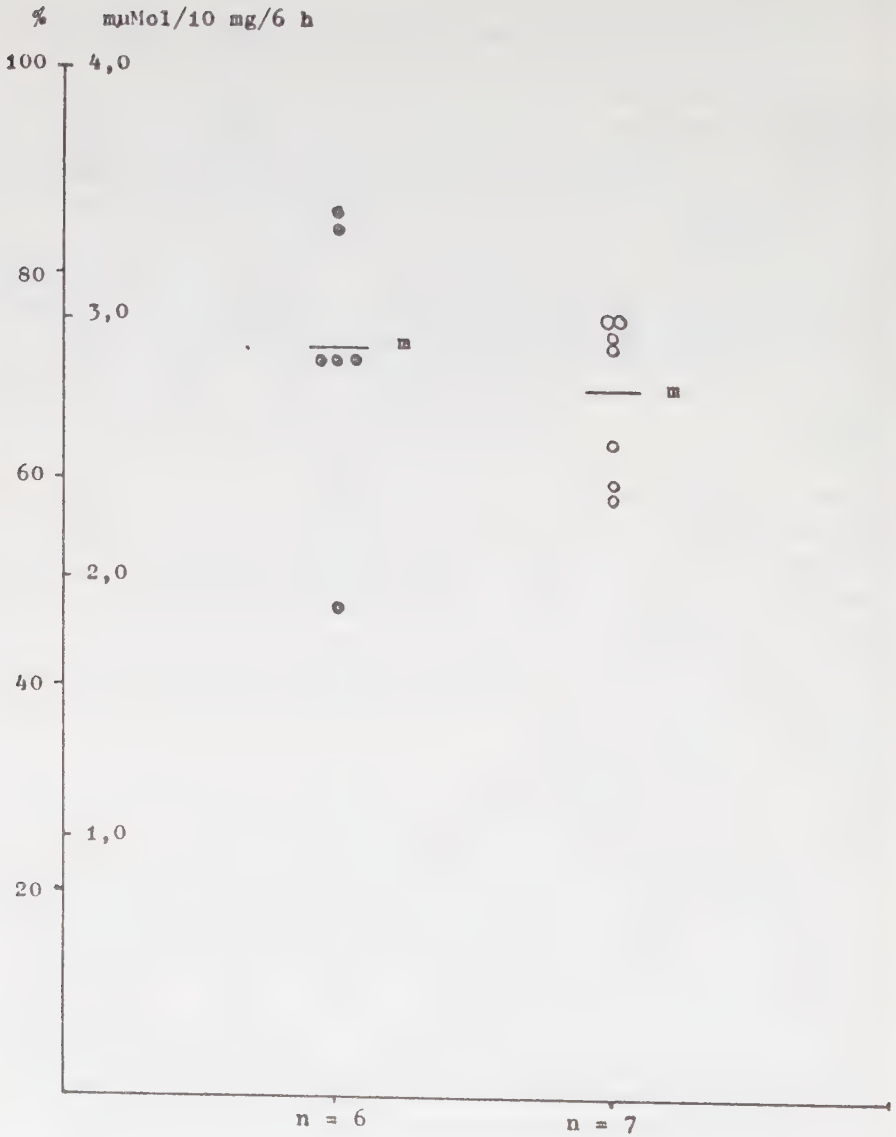


Abb. 8: Abbau von Testosteron durch normales Lebergewebe von 6 Frauen und 7 Männern.
 Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion
 Dauer: 6,0 Stunden

Fraktion	Männer (n=7)	Frauen (n=6)
5 α ,3 α -Adiol	2,8 $\pm$ 3,6 %	0,8 $\pm$ 0,3 %
5 β ,3 α -Adiol	12,8 $\pm$ 9,7 %	18,4 $\pm$ 6,9 %
5 α ,3 α -Adiol	2,7 $\pm$ 2,7 %	3,0 $\pm$ 1,5 %
5 α ,3 α -A	1,6 $\pm$ 0,6 %	2,9 $\pm$ 1,5 %
5 β ,3 α -A	15,9 $\pm$ 5,9 %	24,5 $\pm$ 7,4 %
5 β -DHT	5,0 $\pm$ 1,5 %	4,3 $\pm$ 1,6 %
5 α -DHT	2,0 $\pm$ 0,6 %	2,1 $\pm$ 1,0 %
e-T	1,3 $\pm$ 0,7 %	1,7 $\pm$ 0,7 %
T	32,8 $\pm$ 7,2 %	28,1 $\pm$ 13,8 %
5 β -Adion	2,5 $\pm$ 1,5 %	1,6 $\pm$ 0,8 %
5 α -Adion	1,1 $\pm$ 0,3 %	1,5 $\pm$ 0,9 %
Δ^4 -A	15,3 $\pm$ 10,7 %	6,8 $\pm$ 2,2 %

Tab.11: Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 7 Männern und 6 Frauen
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

In der Fraktion von Androstendion waren bei den Männern noch $43,2 \pm 22,6 \%$, bei den Frauen noch $13,0 \pm 5,7 \%$ der Gesamtaktivität nach 6-stündiger Inkubation. Lebergewebe von Frauen baute also Androstendion mit $87,0 \pm 5,7 \%$ in höherem MaBa ab, als Lebergewebe von Männern mit $56,8 \pm 22,6 \%$. Abbildung 9 zeigt den Abbau von Androstendion durch normales Lebergewebe von 4 Frauen und 7 Männer.

Der größte Anteil der ^3H -Aktivität war bei den Männern ($30,8 \pm 11,2\%$) und bei den Frauen ($44,9 \pm 6,6 \%$) in der Fraktion von Ätiocholanolon. In der Fraktion von 5β -Androstandiol war sowohl bei den Männern ($3,7 \pm 2,4 \%$) als auch bei den Frauen ($9,6 \pm 2,8 \%$) ein geringerer Anteil an der ^3H -Aktivität zu finden.

In der Fraktion von Testosteron waren bei den Männern mit $6,9 \pm 3,8 \%$ und den Frauen mit $9,8 \pm 2,0$ etwa gleich hohe Anteile an der ^3H -Gesamtaktivität.

Wie auch nach Inkubation von Testosteron waren in den Fraktionen der anderen, vor allem der 5α -hydrierten Verbindungen geringere Radioaktivitätsmengen.

Im einzelnen waren in der Fraktion von 5β -DHT bei den Männern $3,9 \pm 2,4 \%$ und bei den Frauen $3,9 \pm 0,7 \%$ der Gesamtaktivität, in der Fraktion von 5α -DHT bei den Männern $1,6 \pm 0,9 \%$ und bei den Frauen $2,0 \pm 1,0 \%$ der Gesamtaktivität. In der Fraktion von 5β -Androstendion waren bei den Männern $3,8 \pm 2,0 \%$ und bei den Frauen $2,5 \pm 1,4 \%$ der Gesamtaktivität, in der Fraktion von 5α -Androstendion $1,3 \pm 0,6 \%$ bei den Männern und $2,1 \pm 0,7 \%$ bei den Frauen. Die Mittelwerte und die einfache Standardabweichung der prozentualen Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion mit normalem Lebergewebe von 4 Frauen und 7 Männern sind in Tabelle 12 zusammengestellt.

Die Werte des Quotienten R (s.S.16), die in Tabelle 13 zusammengestellt sind waren bei Männern und Frauen gleich.

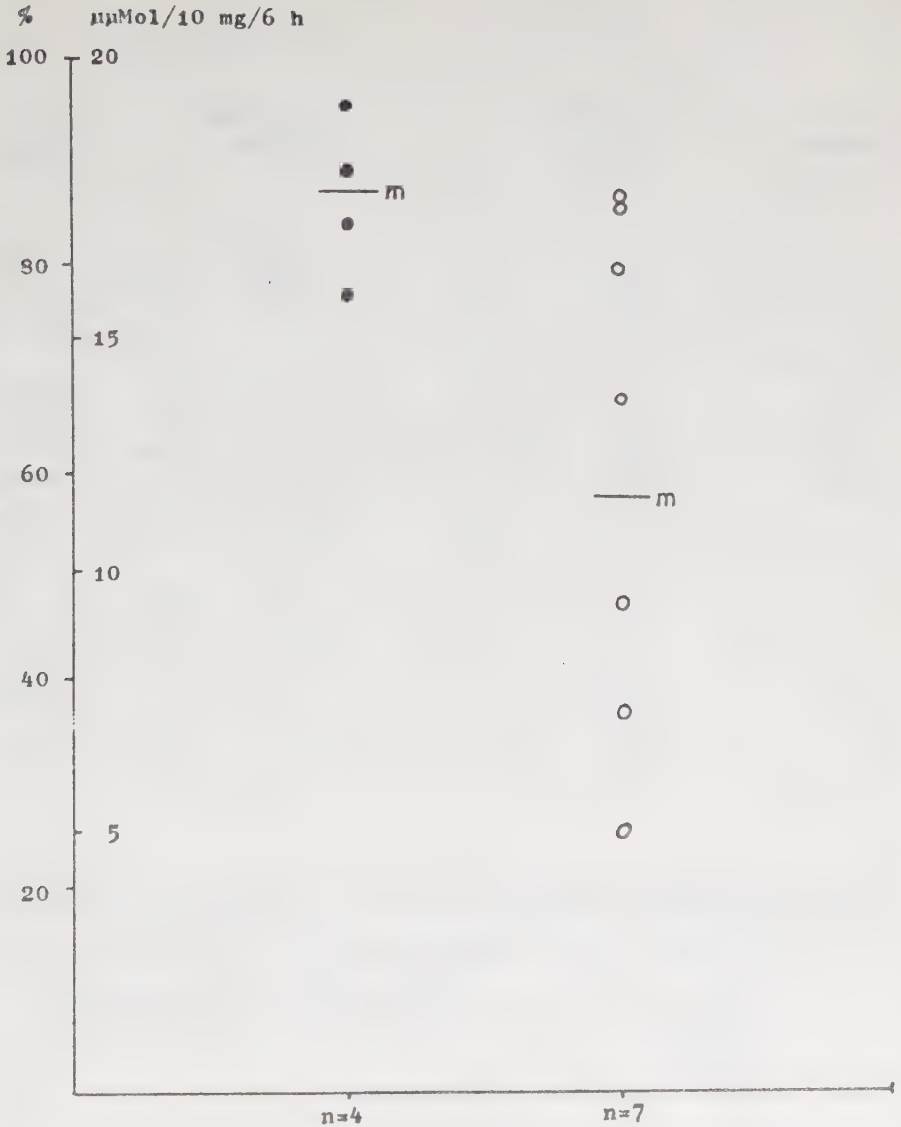


Abb.9: Abbau von Androstendion durch normales Lebergewebe von 4 Frauen und 7 Männer
 Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion
 Inkubationsdauer: 6,0 Stunden

Fraktion	Männer (n=7)	Frauen (n=4)
5 α ,3 α -Adiol	1,5 $\pm$ 1,2 %	0,6 $\pm$ 0,4 %
5 β ,3 α -Adiol	3,7 $\pm$ 2,4 %	9,6 $\pm$ 2,8 %
5 α ,3 β -Adiol	1,3 $\pm$ 0,6 %	2,1 $\pm$ 0,6 %
5 α ,3 α -A	1,8 $\pm$ 0,9 %	2,3 $\pm$ 1,0 %
5 β ,3 α -A	30,8 $\pm$ 11,2 %	44,9 $\pm$ 6,6 %
5 β -DHT	3,9 $\pm$ 2,4 %	3,9 $\pm$ 0,7 %
5 α -DHT	1,6 $\pm$ 0,9 %	2,0 $\pm$ 1,0 %
e-T	1,5 $\pm$ 1,3 %	2,3 $\pm$ 0,5 %
T	6,9 $\pm$ 3,8 %	9,8 $\pm$ 2,0 %
5 β -Adion	3,8 $\pm$ 2,0 %	2,5 $\pm$ 1,4 %
5 α -Adion	1,3 $\pm$ 0,6 %	2,1 $\pm$ 0,7 %
Δ^4 -A	43,2 $\pm$ 22,6 %	13,0 $\pm$ 5,7 %

Tab.12: Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -
 Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem
 Lebergewebe mit normaler Histologie von 7 Männern und
 4 Frauen
 (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Fraktion	Männer (n=7)	Frauen (n=4)
5 α ,3 α -Adiol	1,5 $\pm$ 0,7	1,3 $\pm$ 0,6
5 β ,3 α -Adiol	2,4 $\pm$ 1,0	2,3 $\pm$ 1,0
5 α ,3 β -Adiol	1,7 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 0,5
5 α ,3 α -A	0,7 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,5
5 β ,3 α -A	0,4 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,1
5 β -DHT	1,0 $\pm$ 0,4	1,0 $\pm$ 0,2
5 α -DHT	0,9 $\pm$ 0,1	1,0 $\pm$ 0,1
e-T	0,8 $\pm$ 0,4	0,7 $\pm$ 0,2
T	4,1 $\pm$ 1,3	2,8 $\pm$ 1,3
5 β -Adion	0,4 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,1
5 α -Adion	0,7 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,04
Δ^4 -A	0,3 $\pm$ 0,2	0,6 $\pm$ 0,3

Tab.13: Werte des Quotienten R nach Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion mit normalem Lebergewebe von 7 Männern und 4 Frauen

5) Der Metabolismus von Testosteron und Androstendion durch pathologisch verändertes Lebergewebe von Männern und Frauen:

Da jeweils bei Punktionen anfallendes Lebergewebe inkubiert wurde, bevor noch die Histologie bekannt war, ergab sich, daß uns, trotz einer großen Zahl von Einzeluntersuchungen, Lebergewebe mit vergleichbarer Histologie nur von 2 Männern mit Leberzirrhose, einem Mann mit Stauungsfibrose, 2 Männern mit chronischer Hepatitis und 6 Männern mit Fettleber, sowie je einer Frau mit Fettleber und mit Stauungsfibrose zur Verfügung stand.

Der Abbau von Testosteron durch normales Lebergewebe von Männern ($67,2 \pm 7,2 \%$), Fettleber ($57,4 \pm 11,5 \%$) und Stauungsfibrose ($74,6\%$) lag in der gleichen Größenordnung. Deutlich vermindert war der Testosteronabbau durch Lebergewebe mit chronischer Hepatitis ($26,0$ und $50,6 \%$). Beide Abbauraten lagen außerhalb der doppelten Standardabweichung des Mittelwertes der Versuche mit normalem Lebergewebe. Mehr Testosteron als durch normales Lebergewebe wurde durch die zwei Gewebeproben mit Zirrhose abgebaut ($84,8$ und $85,3 \%$). Diese beiden Werte liegen ebenfalls außerhalb der doppelten Standardabweichung des Mittelwertes der Versuche mit normalem Lebergewebe von Männern. (s. Abbildung 10)

Die Interkonversion von Testosteron zu Androstendion bewegte sich in normalem Lebergewebe ($15,3 \pm 10,7 \%$), Fettleber ($14,5 \pm 3,1 \%$), chronischer Hepatitis ($9,0$ und $9,9 \%$) und Zirrhoseleber ($14,3$ bzw. $10,2 \%$) in der gleichen Größenordnung. Bei dem Patienten mit Stauungsfibrose waren $49,9 \%$ der ^{14}C -Aktivität in der Fraktion von Androstendion.

Die Verteilung der Radioaktivität in den Fraktionen der anderen Verbindungen unterschied sich nicht von der in normalem Lebergewebe. Tabelle 14 zeigt die Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von normalem und pathologisch verändertem Lebergewebe von Männern mit $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion.

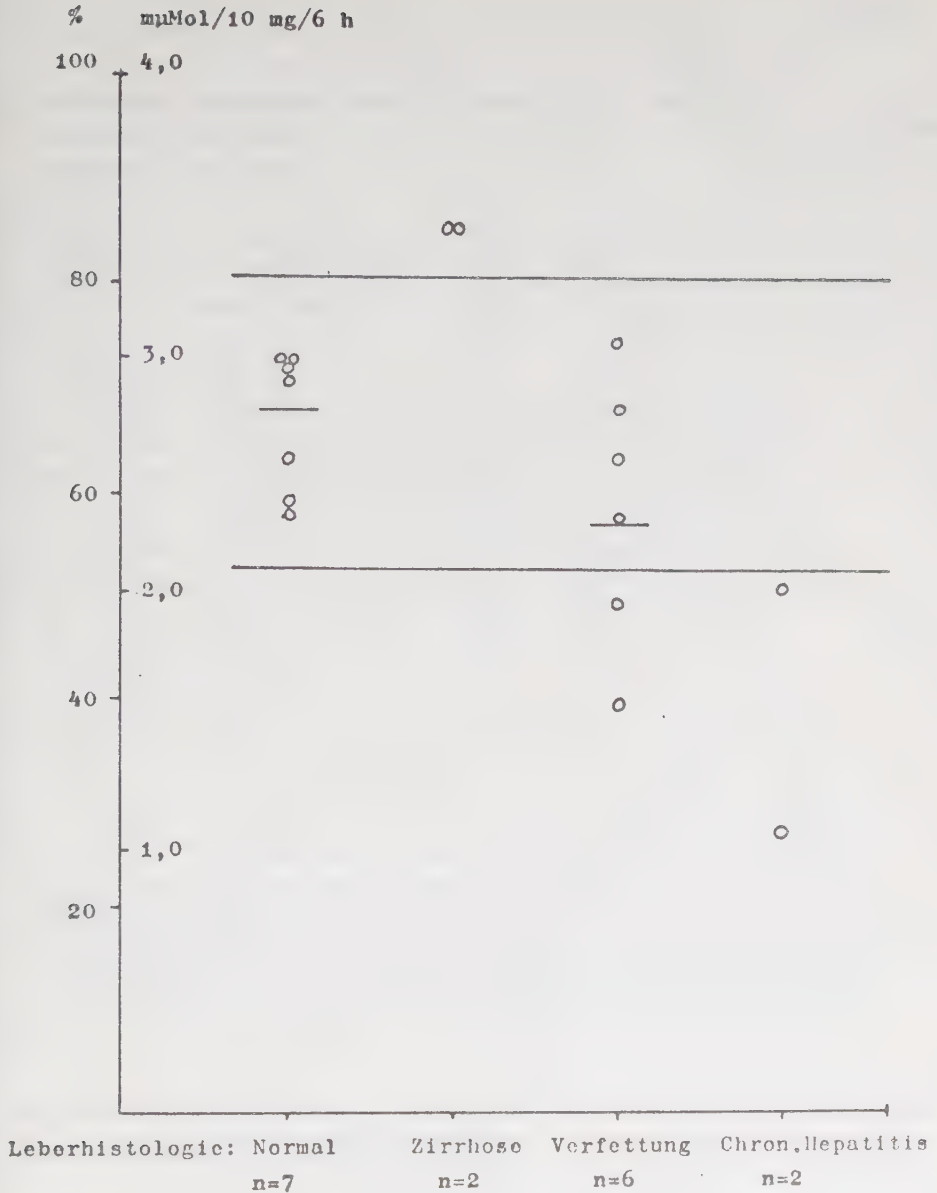


Abb.10: Abbau von Testosteron durch normales und pathologisch verändertes Lebergewebe von Männern

Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion

Inkubationsdauer: 6,0 Stunden

Fraktion	normale									
	Histologie (n=7)		Zirrhose (n=2)		Fibrose (n=1)		Fettleber (n=6)		Hepatitis (n=2)	
5 α ,3 α -Adiol	2,8 $\pm$	3,6	1,7	3,4	1,1	1,4 $\pm$	1,1	0,1	2,0 %	
5 β ,3 α -Adiol	12,8 $\pm$	9,7	18,6	22,0	6,7	14,0 $\pm$	4,2	6,3	12,6 %	
5 α ,3 β -Adiol	2,7 $\pm$	2,7	3,9	1,0	0,6	2,3 $\pm$	2,0	0,0	0,5 %	
5 α ,3 α -A	1,6 $\pm$	0,6	4,1	0,4	1,9	2,5 $\pm$	1,1	0,0	2,7 %	
5 β ,3 α -A	15,9 $\pm$	5,9	24,4	34,9	6,7	11,2 $\pm$	6,1	5,6	15,8 %	
5 β -DHT	5,0 $\pm$	1,5	4,4	2,3	2,2	2,8 $\pm$	1,1	1,7	2,5 %	
5 α -DHT	2,0 $\pm$	0,6	2,4	1,4	1,1	1,6 $\pm$	0,6	0,0	1,0 %	
e-T	1,3 $\pm$	0,7	2,9	2,5	0,3	2,0 $\pm$	1,9	0,0	0,0 %	
T	32,8 $\pm$	7,2	15,2	14,7	25,4	42,6 $\pm$	11,5	73,9	49,3 %	
5 β -Adion	2,5 $\pm$	1,5	0,5	2,6	0,6	0,9 $\pm$	0,2	0,0	1,5 %	
5 α -Adion	1,1 $\pm$	0,3	0,1	0,9	0,6	0,7 $\pm$	0,4	0,0	0,3 %	
⁴ Δ -A	15,3 $\pm$	10,7	14,3	10,2	49,9	14,5 $\pm$	3,1	9,0	9,9 %	

Tab.14: Verteilung der ¹⁴C-Aktivität nach Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie (n=7), zirrhotischem Umbau (n=2), Fibrose (n=1), Verfettung (n=6) und chronischer Hepatitis (n=2) von Männern
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Die Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion mit normalem und pathologisch verändertem Lebergewebe von Männern war wie folgt:

In der Fraktion waren nach 6,0 Stunden bei normalem Lebergewebe noch $43,2 \pm 22,6 \%$, bei Fettleber noch $46,6 \pm 17,3 \%$ und bei chronischer Hepatitis noch 49,9 bzw. 28,7 % der Gesamtradioaktivität in der Fraktion von Androstendion. Weniger Aktivität in der Androstendionfraktion fand sich bei der Leberzirrhose, 13,9 bzw. 14,3 % der Gesamtaktivität. Der Abbau von Androstendion war also in allen untersuchten Fällen mit pathologisch verändertem Lebergewebe, mit Ausnahme der beiden Zirrhoselebern gleich hoch wie in normalem Lebergewebe.

Die Interkonversion von Androstendion zu Testosteron war in normalem Lebergewebe ($6,9 \pm 3,8 \%$), Fettleber ($8,4 \pm 3,2 \%$) und Zirrhoseleber (6,9 bzw. 4,7 %) gleich hoch, in Hepatitisleber mit 16,4 und 10,6 % oberhalb der einfachen Standardabweichung des Mittelwertes der Untersuchungen mit normalem Lebergewebe.

Die Verteilung der Radioaktivität in die Fraktionen der anderen Verbindungen verhielt sich in normalem und pathologisch verändertem Lebergewebe in etwa gleich. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

Die Werte des Quotienten R waren nach Inkubation von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion mit normalem und mit pathologisch verändertem Lebergewebe von Männern in der gleichen Größenordnung. Das bedeutet, daß auch in pathologisch verändertem Lebergewebe die 17-Ketosteroide bevorzugt über den 17-Ketoweg, die 17 β -Hydroxysteroidoide bevorzugt über den 17 β -Hydroxyweg gebildet werden.

Tabelle 16 zeigt die Werte des Quotienten R nach Inkubation von Testosteron und Androstendion mit normalem Lebergewebe von 7 Männern, Fettleber von 6 Männern, Zirrhoseleber von 2 Männern, Lebergewebe mit Zeichen einer chronischen Hepatitis von 2 Männern.

Von Frauen wurden eine Fettleber und eine Fibroseleber im Vergleich zu normalem Lebergewebe untersucht.

In der Fraktion von Testosteron waren nach Inkubation von normalem Lebergewebe noch $28,1 \pm 13,8 \%$ der Gesamtaktivität, nach Inkubation von Fettleber noch 51,1 % und von Fibroseleber noch 29,4 % der Gesamtaktivität. Der Abbau von Testosteron durch normales Lebergewebe ($71,9 \pm 13,8 \%$) und Fibroseleber (70,6 %) war also gleich, der durch Fettleber (48,9 %) niedriger.

Fraktion	normale		Zirrhose		Fettleber		Hepatitis	
	Histologie (n=7)		(n=2)		(n=6)		(n=2)	
5 α ,3 α -Adiol	1,5 $\pm$ 1,2	1,0	2,6	0,7 $\pm$ 0,4	0,2	1,4	%	
5 β ,3 α -Adiol	3,7 $\pm$ 2,4	7,5	11,9	5,2 $\pm$ 0,6	3,3	7,5	%	
5 α ,3 β -Adiol	1,3 $\pm$ 0,6	2,5	0,7	1,2 $\pm$ 0,7	0,1	0,6	%	
5 α ,3 α -A	1,8 $\pm$ 0,9	4,2	0,7	2,7 $\pm$ 1,3	0,9	4,8	%	
5 β ,3 α -A	30,8 $\pm$ 11,2	44,9	51,8	26,8 $\pm$ 10,6	15,9	35,6	%	
5 β -DHT	3,9 $\pm$ 2,4	4,3	2,0	3,0 $\pm$ 0,9	1,7	2,8	%	
5 α -DHT	1,6 $\pm$ 0,9	2,5	1,4	1,9 $\pm$ 1,0	1,1	0,5	%	
e-T	1,5 $\pm$ 1,3	1,3	2,3	1,2 $\pm$ 0,6	0,2	1,5	%	
T	6,9 $\pm$ 3,8	6,9	4,7	8,4 $\pm$ 3,2	16,4	10,6	%	
5 β -Adion	3,8 $\pm$ 2,0	0,8	3,6	1,9 $\pm$ 0,5	3,5	2,8	%	
5 α -Adion	1,3 $\pm$ 0,6	0,4	0,9	1,0 $\pm$ 0,7	1,0	0,8	%	
Δ^4 -A	43,2 $\pm$ 22,6	13,9	14,3	46,6 $\pm$ 17,3	49,9	28,7	%	

Tab.15: Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie (n=7), zirrhotischem Umbau (n=2), Verfettung (n=6) und chronischer Hepatitis (n=2) von Männern
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Fraktion	normale						
	Histologie (n=7)	Zirrhose (n=2)		Fettleber (n=6)		Hepatitis (n=2)	
5 α ,3 α -Adiol	1,5 $\pm$ 0,7	1,4	1,3	1,6 $\pm$ 0,7	0,9	1,8	
5 β ,3 α -Adiol	2,4 $\pm$ 1,0	2,1	1,8	2,5 $\pm$ 1,3	2,3	2,1	
5 α ,3 β -Adiol	1,7 $\pm$ 0,8	1,3	1,2	2,0 $\pm$ 1,9	0,0	1,9	
5 α ,3 α -A	0,7 $\pm$ 0,3	0,8	0,6	1,2 $\pm$ 1,3	0,0	0,7	
5 β ,3 α -A	0,4 $\pm$ 0,1	0,5	0,6	0,3 $\pm$ 0,1	0,4	0,5	
5 β -DHT	1,0 $\pm$ 0,4	0,9	1,1	0,8 $\pm$ 0,2	1,2	1,1	
5 α -DHT	0,9 $\pm$ 0,1	0,8	1,0	0,8 $\pm$ 0,3	0,0	2,6	
e-T	0,8 $\pm$ 0,4	1,9	1,0	0,8 $\pm$ 0,6	0,0	0,0	
T	4,1 $\pm$ 1,3	1,9	3,0	4,2 $\pm$ 1,9	5,5	5,8	
5 β -Adion	0,4 $\pm$ 0,1	0,6	0,7	0,4 $\pm$ 0,1	0,0	0,7	
5 α -Adion	0,7 $\pm$ 0,1	0,1	1,0	1,2 $\pm$ 1,6	0,0	0,4	
Δ^4 -A	0,3 $\pm$ 0,2	0,9	0,7	0,3 $\pm$ 0,2	0,2	0,4	

Tab.16: Werte des Quotienten R nach Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie (n=7), zirrhotischem Umbau (n=2), Verfettung (n=6) und chronischer Hepatitis (n=2) von Männern
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Die Interkonversion von Testosteron zu Androstendion war in normalem Lebergewebe ($6,8 \pm 2,2 \%$) und in Fibroseleber ($3,4 \%$) niedriger als in Fettlebergewebe ($12,6 \%$).

In der Fraktion von 5 β -Androstandiol war nach Inkubation von normalem Lebergewebe ($18,4 \pm 6,9 \%$) und Fibroseleber ($24,0 \%$) gleiche Aktivitätsmengen, nach Inkubation von Fettleber ($5,3 \%$) geringere Aktivitätsmengen. Entsprechend waren auch die Aktivitätsanteile in der Fraktion von 5 β -Androsteron: normales Lebergewebe $24,5 \pm 7,4 \%$, Fibroseleber $28,7 \%$ und Fettleber $10,6 \%$.

Die Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit normalem Lebergewebe ($n=6$), Fettlebergewebe ($n=1$) und Fibroseleber ($n=1$) von Frauen ist in Tabelle 17 zusammengestellt.

Die Verteilung der ^3H -Aktivität aus dem Abbau von Androstendion war wie folgt:

In der Fraktion von Androstendion waren bei normalem Lebergewebe nach 6-stündiger Inkubation noch $13,0 \pm 5,7 \%$ der Gesamtaktivität, bei Fibroseleber noch $15,1 \%$ und bei Fettleber noch $48,1 \%$ der Gesamtaktivität.

Die Interkonversion von Androstendion zu Testosteron war in normalem Lebergewebe $9,8 \pm 2,0 \%$. Etwa gleich hoch war sie in Fettlebergewebe $7,9 \%$, geringer bei Fibroseleber $5,3 \%$.

In der Fraktion von Ätiocholanolon wurden bei normalem Lebergewebe $44,9 \pm 6,6 \%$ der Gesamtaktivität gefunden. Gleich hoch war der Anteil an der Gesamtaktivität in dieser Fraktion bei Fibroseleber, $48,5 \%$, niedriger bei Fettleber $17,1 \%$. Ebenfalls in etwa gleiche Aktivitätsmengen bei normaler Leber ($9,6 \pm 2,8 \%$) und Fibroseleber ($12,8 \%$) fanden sich in der Fraktion von 5 β -Androstandiol, weniger dagegen bei Fettleber ($3,6 \%$).

Die Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit normalem und pathologisch verändertem Lebergewebe von Frauen ist in Tabelle 18 zusammengestellt. Bezüglich der Abbauwege von Testosteron, (Berechnung des Quotienten R) bestanden keine Unterschiede zwischen normalem Lebergewebe und pathologisch verändertem Lebergewebe von Frauen.

Die Werte des Quotienten R sind in Tabelle 19 angegeben.

Fraktion	normale		Fibrose (n=1)	Fettleber (n=1)
	Histologie (n=6)			
5 α ,3 α -Adiol	0,8 $\pm$ 0,3		0,6	1,0 %
5 β ,3 α -Adiol	18,4 $\pm$ 6,9		24,0	5,3 %
5 α ,3 β -Adiol	3,0 $\pm$ 1,5		2,7	1,1 %
5 α ,3 α -A	2,9 $\pm$ 1,5		1,5	4,6 %
5 β ,3 α -A	24,5 $\pm$ 7,4		28,7	10,6 %
5 β -DHT	4,3 $\pm$ 1,6		3,8	3,6 %
5 α -DHT	2,1 $\pm$ 1,0		2,1	1,7 %
e-T	1,7 $\pm$ 0,7		1,3	1,5 %
T	28,1 $\pm$ 13,8		29,4	51,1 %
5 β -Adion	1,6 $\pm$ 0,8		0,2	1,8 %
5 α -Adion	1,5 $\pm$ 0,9		0,3	0,4 %
Δ^4 -A	6,8 $\pm$ 2,2		3,4	12,6 %

Tab.17: Verteilung der ^{14}C -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 6 Frauen, Fibroseleber und Fettleber von je einer Frau (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Fraktion	normale		Fibrose (n=1)	Fettleber (n=1)
	Histologie (n=4)			
5 α ,3 α -Adiol	0,6 $\pm$ 0,4		0,6	0,8 %
5 β ,3 α -Adiol	9,6 $\pm$ 0,4		12,8	3,6 %
5 α ,3 β -Adiol	2,1 $\pm$ 0,6		1,9	1,2 %
5 α ,3 α -A	2,3 $\pm$ 1,0		1,9	5,5 %
5 β ,3 α -A	44,9 $\pm$ 6,6		48,5	17,1 %
5 β -DHT	3,9 $\pm$ 0,7		3,8	3,8 %
5 α -DHT	2,0 $\pm$ 1,0		2,8	1,4 %
e-T	2,3 $\pm$ 0,5		1,9	2,1 %
T	9,8 $\pm$ 2,0		5,3	7,9 %
5 β -Adion	2,5 $\pm$ 1,4		0,5	2,1 %
5 α -Adion	2,1 $\pm$ 0,7		0,8	0,5 %
Δ^4 -A	13,0 $\pm$ 5,7		15,1	48,1 %

Tab.18: Verteilung der ^3H -Aktivität nach Inkubation von 4- ^{14}C -Testosteron und 1,2- ^3H -Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 4 Frauen, Fibroseleber und Fettleber von je einer Frau (Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

Fraktion	normale		Fibrose (n=1)	Fettleber (n=1)
	Histologie (n=4)			
5 α ,3 α -Adiol	1,3 $\pm$ 0,6		1,0	1,5
5 β ,3 α -Adiol	2,3 $\pm$ 1,0		1,8	1,8
5 α ,3 β -Adiol	1,8 $\pm$ 0,5		1,4	1,1
5 α ,3 α -A	1,1 $\pm$ 0,5		0,8	1,0
5 β ,3 α -Adiol	0,5 $\pm$ 0,1		0,6	0,7
5 β -DHT	1,0 $\pm$ 0,2		1,0	1,1
5 α -DHT	1,0 $\pm$ 0,1		0,7	1,4
e-T	0,7 $\pm$ 0,2		0,6	0,8
T	2,8 $\pm$ 1,3		5,4	7,6
5 β -Adion	0,7 $\pm$ 0,1		0,4	1,0
5 α -Adion	0,7 $\pm$ 0,0		0,4	0,8
Δ^4 -A	0,6 $\pm$ 0,3		0,2	0,3

Tab.19: Werte des Quotienten R nach Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion mit perkutan gewonnenem Lebergewebe mit normaler Histologie von 4 Frauen, Fibroseleber und Fettleber von je einer Frau
(Inkubationsdauer: 6,0 Stunden)

6) Metabolismus von Testosteron und Androstendion durch Lebergewebe von Patienten mit Hypogonadismus oder Cushingsyndrom:

Untersucht wurde der Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion in Lebergewebe von 2 Patienten mit Klinefelter-Syndrom (47,XXY) und einer Patientin mit vermehrter Cortisolproduktion bei beidseitiger NNR-Hyperplasie (Cushing-Syndrom).

Der Abbau von Testosteron lag bei den Patienten mit Klinefelter-syndrom mit 65,7 und 67,0 % in gleicher Höhe wie bei den normalen Männern mit $67,2 \pm 7,2$ %.

Der Anteil der ^{14}C -Aktivität in der Fraktion von Androstendion lag bei den Klinefelterpatienten mit 2,4 und 1,6 % unter dem Mittelwert der normalen Männer mit $25,3 \pm 10,7$ %).

Die in den anderen Fraktionen gemessenen Aktivitätsmengen waren bei den Klinefelterpatienten in der selben Größenordnung wie bei den normalen Männern.

Der Abbau von Androstendion war bei den Klinefelterpatienten mit 86,5 und 67,8 % etwas höher als bei den normalen Männern mit $56,8 \pm 22,6$ %.

Die Interkonversion von Androstendion zu Testosteron war bei den normalen Männern mit $6,9 \pm 3,8$ % und bei den Patienten mit Klinefelter-Syndrom mit 4,2 und 11,6 % etwa gleich groß.

In der Fraktion von 5β -Androstandiol wurde nach Inkubation von Lebergewebe der Patienten mit Klinefelter-Syndrom mit 9,7 und 9,1 % mehr ^3H -Aktivität gefunden als nach Inkubation von Lebergewebe normaler Männer mit $3,7 \pm 2,4$ %. Die Aktivitätsmengen, die in der Fraktion von Ätiocholanolon gefunden wurden, waren bei den Klinefelterpatienten mit 29,6 und 33,5 % und bei den normalen Männern mit $30,8 \pm 11,2$ % der Gesamtaktivität gleich groß.

Die Werte des Quotienten R waren für alle Metaboliten bei den Klinefelterpatienten in gleicher Höhe wie bei den normalen Männern. Die Einzelergebnisse der Versuche sind im Anhang zu finden.

Die Inkubation von Lebergewebe einer Frau mit vermehrter Cortisolproduktion bei beidseitiger NNR-Hyperplasie (Cushing-Syndrom) ergab folgende Ergebnisse:

Der Abbau von Testosteron lag in Lebergewebe von normalen Frauen

mit $71,9 \pm 13,8 \%$ und dieser Patientin mit $60,2 \%$ in gleicher Höhe. Die Interkonversion von Testosteron zu Androstendion war mit $11,9 \%$ bei der Cushingpatientin größer als bei den normalen Frauen mit $6,8 \pm 2,2 \%$.

In der Fraktion von Ätiocholanolon wurde nach Inkubation von Lebergewebe der Patientin mit NNR-Hyperplasie mit $5,2 \%$ weniger Aktivität gemessen als nach Inkubation von Lebergewebe normaler Frauen mit $24,5 \pm 7,4 \%$. In der Fraktion von 5β -Androstandiol war dagegen der Anteil an der Gesamtaktivität bei normalen Frauen mit $18,4 \pm 6,9 \%$ und der Cushingpatientin mit $18,4 \%$ gleich.

Mehr Aktivität als bei den normalen Frauen war bei der Cushingpatientin in den Fraktionen der beiden 5α -hydrierten Metaboliten Androstandiol (normale Frauen: $0,8 \pm 0,3 \%$, Cushing: $5,3 \%$) und 5α -DHT (normale Frauen: $2,1 \pm 1,0 \%$, Cushing: $3,7 \%$).

Androstendion wurde von Lebergewebe der Cushingpatientin mit $42,8 \%$ gegenüber Lebergewebe normaler Frauen mit $87,0 \pm 5,7 \%$ weniger abgebaut.

Die Interkonversion von Androstendion zu Testosteron war mit $1,4 \%$ bei der Cushingpatientin sehr niedrig, sie lag außerhalb der doppelten Standardabweichung des Mittelwertes bei den normalen Frauen mit $9,8 \pm 2,0 \%$.

In den Fraktionen von 5β -Androstandiol (normale Frauen: $9,6 \pm 2,8 \%$, Cushing: $4,2 \%$) und Ätiocholanolon (normale Frauen: $44,9 \pm 6,6 \%$, Cushing: $15,4 \%$) war bei der Cushingpatientin jeweils weniger Aktivität als bei den normalen Frauen zu finden.

Die Werte des Quotienten R lagen bei der Cushingpatientin für die 17β -OH-Steroide höher als bei den normalen Frauen.

Die Einzelwerte dieses Versuches sind im Anhang zu finden.

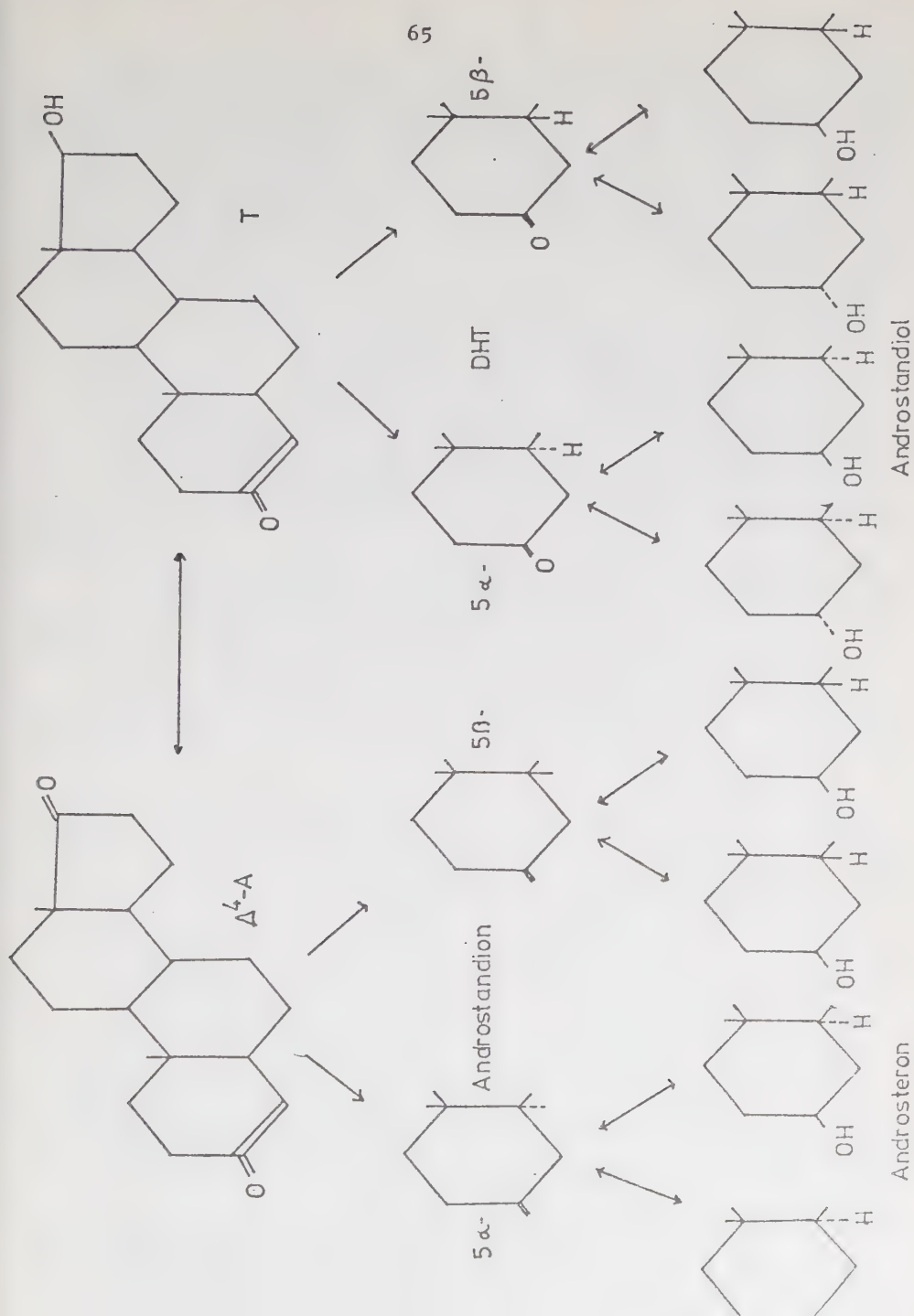
IV. Diskussion der Ergebnisse

Die ersten Versuche, die wir ohne Zusatz eines wasserstoffliefernden Systems durchführten, sollten zeigen, ob es möglich ist, mit kleinen Gewebemengen (5 - 15 mg) einen meßbaren Umsatz von $4\text{-}^{14}\text{C}$ -Testosteron und $1,2\text{-}^3\text{H}$ -Androstendion zu erhalten. Bei diesen Versuchen war der Testosteronabbau zwar meßbar, aber so gering, daß vor allem in Fraktionen von Metaboliten, die in geringerem Ausmaß aus Testosteron gebildet werden, keine vom Leerwert unterscheidbare Aktivitätsmengen zu messen waren.

Weitere Versuche, mit wasserstofflieferndem System, führten zu wesentlich höheren Umsatzraten von Testosteron (58 - 74 % der Gesamtmenge) und Androstendion (25 - 86 % der Gesamtmenge). Die eingesetzte ^{14}C - und ^3H -Aktivität war so hoch, daß bei einem entsprechend hohem Umsatz auch in Fraktionen von Metaboliten, die in geringerer Menge gebildet wurden, noch vom Leerwert unterscheidbare Aktivitätsmengen zu messen waren.

Aufgrund der in der Literatur beschriebenen Metaboliten von Testosteron nach Inkubationsversuchen mit Lebergewebe vom Menschen kann man das in Abbildung 11 gezeigte Stoffwechselschema aufstellen. Die von verschiedenen Arbeitsgruppen (14;15;16) als Metaboliten von Testosteron bei in vitro-Untersuchungen isolierten Verbindungen (Androstandiole, Androstanolone, Androstandione, Androst-4,16-dien-3-on, $16\alpha\text{-OH}$ - und $6\beta\text{-OH}$ -Androstendion und möglicherweise $16\alpha\text{-OH}$ - und $6\beta\text{-OH}$ -Testosteron) lassen den Schluß zu, daß Testosteron in der Leber durch mehrere Enzymsysteme metabolisiert wird. Eine 17β -Hydroxysteroid Oxydo-Reduktase dehydriert die $17\beta\text{-OH}$ -Gruppe bzw. reduziert die 17 -Ketogruppe. $^4\text{-}5\alpha/5\beta$ -Reduktasen hydrieren die Δ^4 -Doppelbindung an C-4 und C-5. $3\alpha/3\beta$ -Hydroxysteroid-Oxydo-Reduktasen reduzieren die 3 -Keto- bzw. dehydrieren die 3-OH -Gruppe. Ferner können noch verschiedene Hydroxylasen Testosteron bzw. Androstendion zu hydroxylierten Verbindungen umsetzen.

Testosteron wurde unter den gegebenen Versuchsbedingungen zu Androstendion und vor allem zu 5β -hydrierten Verbindungen, wie 5β -Androstandiol, Ätiocholanolon und 5β -DHT metabolisiert. 5α -hydrierte Verbindungen, wie das biologisch stärker wirksame 5α -DHT wurden aus Testosteron und Androstendion in geringerer Menge gebildet. Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit den in vitro-Ergebnissen anderer Autoren ist schwierig, da in der Literatur zwar die aufgetretenen



Metaboliten beschrieben, jedoch keine quantitativen Angaben über das Verhältnis von 5 α - und 5 β -hydrierten Metaboliten gemacht wurden. Aus den in vivo-Untersuchungen sollte man erwarten, daß 5 α - und 5 β -hydrierte Metaboliten, insbesondere aber Androsteron und Ätiocholanolon, in etwa gleicher Menge gebildet werden. BAULIEU et al. (17) hatten nach Injektion von radioaktiv markiertem Testosteron gefunden, daß Glucuronidester von Androsteron und Ätiocholanolon bei Männern im Verhältnis 8,7 : 12,0 %, Sulfatester dieser Verbindungen im Verhältnis 2,9 : 1,5 % im Urin ausgeschieden wurden.

Die Verschiebung des Metabolismus von Testosteron zu 5 β -hydrierten Metaboliten kann einerseits an den unserem Inkubationsmedium zugesetzten Cofaktoren (NAD-regenerierendes System) liegen, andererseits muß man bedenken, daß bei in vivo-Untersuchungen auch der extrahepatische Stoffwechsel von Testosteron miterfasst wird. In extrahepatischen Geweben wie z.B. der Haut fand auch unsere Arbeitsgruppe unter den gleichen Versuchsbedingungen wie bei den Leberversuchen (9) 5 α -hydrierte Verbindungen in größerer Menge. Hydroxylierte Verbindungen, die BREUER et al. (15;16) als Metaboliten von Testosteron nachweisen konnte, fanden wir nur in geringer Menge. Möglicherweise wurden Testosteron und Androstendion unter den gegebenen Versuchsbedingungen sehr rasch zu 5 β -hydrierten Verbindungen umgesetzt, so daß für die Hydroxylierung zu wenig Substrate zur Verfügung standen.

Einzelne vergleichende Untersuchungen mit Rattenlebergewebe ergaben, daß Testosteron unter den gegebenen Versuchsbedingungen in gleicher Höhe abgebaut wurde, wie in Lebergewebe vom Menschen. Anders war jedoch die Verteilung der Radioaktivität in den einzelnen Fraktionen. Die beim Menschen gefundenen Hauptmetaboliten von Testosteron (5 β -Androstandiol, Ätiocholanolon und Androstendion) wurden bei der Ratte nur in geringer Menge gebildet. Testosteron wurde durch Rattenlebergewebe vorwiegend zu 5 α -hydrierten Verbindungen wie 5 α -Androstandiol und 5 α -DHT umgesetzt. Den größten Anteil der Radioaktivität fanden wir in einer Fraktion, in der nach der relativen Retentionszeit Epiandrosteron zu lokalisieren ist. Auch diese Versuche zeigen, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen auch 5 α -hydrierte Metaboliten entstehen können.

Untersuchungen von STAIB et al. (13) hatten nach Perfusionen von Meerschweinchenleber nur 5 β -hydrierte und hydroxylierte Metaboliten von Testosteron gefunden. Es ist also durchaus möglich, daß die bei Ratten beschriebenen Geschlechtsunterschiede des Testosteronmeta-

holismus beim Menschen nicht nachzuweisen sind, da sie offensichtlich nicht bei allen Tierarten vorhanden sind.

Ein Zeitversuch ergab, daß der Abbau von Testosteron und die Bildung von Androstendion während 6 Stunden annähernd linear verläuft. Die Aktivität der 17 β -Hydroxysteroid-Oxydo-Reduktase bleibt somit vermutlich über die gesamte Zeit gleich. Die Konzentrationen von 5 β -Androstandiol und Ätiocholanolon stiegen zuerst an und erreichten nach etwa zwei Stunden ein Plateau. Man kann daraus schließen, daß die Aktivität der entsprechenden 5 β - und 3 α -Hydrogenasen offenbar bei diesem Versuch nach zwei Stunden abnahm. Insgesamt gesehen ist dieser Versuch nicht ganz typisch für die 6-Stunden-Inkubationsversuche, da erstens die doppelte Menge Inkubationsmedium zugegeben wurde und zweitens das Milieu im Inkubationskölbchen durch die mehrmalige Entnahme von Inkubationsmedium nicht konstant gehalten wurde.

Um verschiedene Abbauewege von Testosteron in Lebergewebe des Menschen zu erfassen, wurde Lebergewebe mit Testosteron und Androstendion in einem Ansatz inkubiert und nach den Angaben von BAULIEU et al. aus der Isotopenverteilung einzelner Metaboliten (Quotient R s.S.16) wurden Rückschlüsse auf entsprechende Abbauewege gezogen. Die von BAULIEU et al. (17) beschriebenen Abbauewege des Testosteron, der 17-Keto- und der 17 β -Hydroxyweg konnten auch in Lebergewebe des Menschen unter in vitro-Bedingungen nachgewiesen werden. Untersuchungen über Geschlechtsunterschiede des Testosteronstoffwechsels in vitro wurden bisher nur an der Ratte durchgeführt (11;12). Als Hauptunterschied im Vergleich zu männlichen Ratten wurde bei weiblichen Ratten ein Überwiegen von 5 α - und 3 α -hydrierten Metaboliten gefunden. Wir untersuchten den Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion in Lebergewebe von 6 Frauen und 7 Männern. In der Höhe des Testosteronabbaues und den auftretenden Metaboliten konnte kein Unterschied gefunden werden. Bei den Männern und den Frauen überwogen unter den gegebenen Versuchsbedingungen 5 β -hydrierte Metaboliten. Androstendion wurde durch Lebergewebe von Frauen etwas mehr abgebaut, als durch Lebergewebe von Männern. Die Abbauraten bei den Männern streuten jedoch erheblich, so daß dieser Unterschied statistisch nicht zu sichern war. Der Grund für den evtl. höheren Umsatz von Androstendion bei Frauen könnte eine Induktion der Androstendion abbauenden Enzyme, insbesondere der 5 β - und 3 α -Enzyme durch den höheren Plasmaspiegel von Androstendion bei Frauen sein. Unterschiede im Stoffwechsel von Androstendion

waren nicht vorhanden. Bei unseren Untersuchungen mit perkutan gewonnenem Lebergewebe von Männern und Frauen konnte kein geschlechtsdifferenter Abbau von Testosteron gefunden werden. Versuche mit pathologisch verändertem Lebergewebe wurde mit Biopsiematerial von Patienten mit Leberzirrhose, Fettleber, Leberfibrose und chronischer Hepatitis durchgeführt. Der Abbau von Testosteron war in normalem Lebergewebe und bei Fettleber etwa gleich, bei chronischer Hepatitis erniedrigt und bei Leberzirrhose erhöht. Die Werte bei Leberzirrhose und bei chronischer Hepatitis lagen jeweils außerhalb der doppelten Standardabweichung des Mittelwertes bei normalen Männern. Ob diese Unterschiede für diese Lebererkrankungen charakteristisch sind kann aufgrund von je zwei Fällen nicht entschieden werden. Der erhöhte Abbau von Testosteron bei Leberzirrhose könnte durch die größere Aktivität der Einzelzelle bei dieser Erkrankung erklärt werden, während bei chronischer Hepatitis offenbar die Funktion der Zelle stärker gestört ist als bei Leberzellverfettung. Veränderungen im Testosteronmetabolismus wurden nicht gefunden. Auch bei Leberzirrhose fanden wir keine Veränderung des Testosteronstoffwechsels, wie sie BREUER et al. (15;16) unter anderen Inkubationsbedingungen beschrieben haben.

Der Abbau von Androstendion war in Leberzirrhosegewebe höher, in Fettlebergewebe und bei chronischer Hepatitis gleich hoch wie in normalem Lebergewebe. Ein veränderter Metabolismus von Androstendion wurde nicht gefunden.

Der Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch Lebergewebe von zwei Patienten mit Klinefelter-Syndrom zeigte im Vergleich zu dem Stoffwechsel von Testosteron und Androstendion durch Lebergewebe normaler Männer keine Unterschiede.

Unterschiede wurden jedoch in der prozentualen Verteilung der Radioaktivität nach Inkubation von Lebergewebe einer Patientin mit Cushingssyndrom im Vergleich zu normalem Lebergewebe von Frauen gefunden. Der Abbau von Testosteron war gleich. In der Fraktion von Ätiocholanolon fand sich weniger, in den Fraktionen von Androstandiol und 5α -DHT mehr Aktivität als bei den normalen Frauen. Der Abbau von Androstendion war bei dieser Patientin niedriger als bei den normalen Frauen, ebenso der Anteil der Radioaktivität in den Fraktionen von Ätiocholanolon und 5β -Androstandiol. Auch die Interkonversion von Androstendion zu Testosteron war bei der Cushingpatientin niedriger als bei den normalen Frauen. Inwieweit die Ergebnisse dieses Versuches charakteristisch für die Veränderungen

des Testosteronstoffwechsels bei weiblichen Cushingpatienten sind, muß offen bleiben. Da bei diesem Versuch 5 α -hydrierte Verbindungen in höherem Ausmaß gebildet wurden, die eine größere biologische Aktivität haben, als 5 β -hydrierte Verbindungen, stellt sich die Frage, ob in der Leber gebildete Verbindungen in der Peripherie wirksam werden können, oder ob sie gleich verestert werden. SCHRIEFERS bezeichnete die Leber weiblicher Ratten einmal als sekundäre Drüse für Androgene (12). Bei unseren Untersuchungen konnten zumindest bei normalen Frauen biologisch aktive Steroide als Testosteronmetaboliten nur in geringem Maß gefunden werden. Wahrscheinlich werden also die biologisch wirksamen Steroide in den Erfolgsorganen selbst gebildet und nicht in der Leber.

E ZUSAMMENFASSUNG

Perkutan und operativ gewonnenes, normales und pathologisch verändertes Lebergewebe von Männern und Frauen (Fettleber, Zirrhose, Stauungsfibrose und chronische Hepatitis), sowie Lebergewebe von Patienten mit Hypogonadismus und Cushingssyndrom wurde mit 4-¹⁴C-Testosteron und 1,2-³H-Androstendion 0,5, 2,0 und 6,0 Stunden in 10 ml Krebs-Ringer-Natriumbikarbonatpuffer unter Zusatz eines wasserstoffliefernden Systems inkubiert.

Wir bedienten uns zum Nachweis und der chromatographischen Trennung der bei der Inkubation entstandenen Testosteronmetaboliten der Radiogaschromatographie. Die große Empfindlichkeit der Registrierung bei dieser Methode erlaubt es, mit geringsten Mengen an Substrat auszukommen. Je geringer die Substratmengen, desto geringer sind auch die benötigten Gewebemengen. Solche Bedingungen sind günstig für die Untersuchung an Geweben, von denen man nur Punktionsmaterial erhalten kann, wie z.B. Lebergewebe. Die Methode genügt, was Beständigkeit der Substanzen gegenüber Inkubation, Extraktion und Trennung, sowie Reproduzierbarkeit der Ergebnisse betrifft den Anforderungen. Äußere Einflüsse, wie Metabolismus durch Bakterien konnten ausgeschlossen werden. Die Inkubationsdauer hat Einfluß auf die Höhe des Substratumsatzes, aber nicht auf die prozentuale Verteilung der Metaboliten. Ebenfalls beeinflussen Testosteron und Androstendion im gleichen Ansatz jeweils den Metabolismus des anderen Substrates nicht.

Wir fanden, daß Testosteron in Lebergewebe des Menschen vor allem zu Androstendion und den 5 β -hydrierten Verbindungen 5 β -Androstan-diol, Ätiocholanolon und 5 β -DHT umgesetzt wird. 5 α -hydrierte Metaboliten wurden dagegen nur in geringer Menge gebildet. Aus den Metaboliten, die bei der Inkubation von Testosteron mit Lebergewebe des Menschen entstanden, kann geschlossen werden, daß Lebergewebe des Menschen über eine 17 β -Hydroxysteroid-Oxydo-Reduktase, 4⁴-5 α /5 β -Reduktasen und 3 α -/3 β -Hydroxysteroid-Oxydo-Reduktasen verfügt. Die Höhe des Testosteronabbaues war von der Inkubationsdauer abhängig, ebenso die Menge der entstandenen Metaboliten. Bei zunehmender Inkubationsdauer nahm die Konzentration von Testosteron ab, die der Metaboliten zu. Auch nach 6 Stunden scheint sich noch kein Gleichgewicht eingestellt zu haben.

In normalem Lebergewebe von Männern und Frauen wurden die gleichen Metaboliten aus Testosteron gebildet. Androstendion wurde in normalem Lebergewebe von Frauen in größerem Ausmaß umgesetzt als in normalem Lebergewebe von Männern.

Auch in pathologisch verändertem Lebergewebe von Männern und Frauen wurden die gleichen Metaboliten wie in normalem Lebergewebe gebildet. Unterschiede fanden sich im Abbau von Testosteron und Androstendion. Fettleber baute Testosteron in gleich hoher Menge ab wie normales Lebergewebe. In zwei Fällen von chronischer Hepatitis war der Abbau von Testosteron vermindert, in zwei Fällen mit Leberzirrhose jedoch erhöht. Der Abbau von Androstendion war in normalem Lebergewebe, Fettleber und Hepatitisleber etwa gleich, in Zirrhoseleber erhöht.

In Lebergewebe von zwei Patienten mit Klinefelter-Syndrom unterschied sich die Höhe des Abbaues von Testosteron nicht von dem in Lebergewebe normaler Männer, jedoch war der Abbau von Androstendion bei Klinefelterpatienten etwas höher als bei normalen Männern. Der Abbau von Testosteron durch Lebergewebe einer Patientin mit Cushing-Syndrom war etwa gleich hoch wie bei normalen Frauen, der Abbau von Androstendion dagegen vermindert. Außerdem war die Umwandlung von Testosteron und Androstendion zu Ätiocholanolon bei dieser Patientin deutlich vermindert und der Umsatz von Testosteron und Androstendion zu 5α -hydrierten Verbindungen erhöht.

F ANHANG

Fraktion	F.W.	H.R.	A.K.	M.H.	K.G.	J.L.	H.L.	
5 α ,3 α -Adiol	9,41	0,17	1,60	0,89	0,69	0,42	6,47	%
5 β ,3 α -Adiol	2,50	11,82	3,08	31,72	15,56	12,46	12,44	%
5 α ,3 β -Adiol	0,52	0,64	2,12	2,75	8,58	2,97	1,58	%
5 α ,3 α -A	0,54	1,52	2,05	2,09	1,68	1,13	2,03	%
5 β ,3 α -A	10,44	23,22	19,55	13,86	10,96	10,34	23,39	%
5 β -DHT	3,73	3,82	5,19	7,38	6,26	3,39	5,39	%
5 α -DHT	1,19	1,89	2,85	1,56	2,60	1,28	2,47	%
e-T	0,25	1,44	1,15	0,77	1,43	2,70	1,40	%
T	26,34	28,76	37,85	25,86	42,33	40,79	27,86	%
5 β -Adion	3,00	4,47	0,28	2,08	1,42	1,70	4,31	%
5 α -Adion	0,70	1,39	1,14	0,89	1,46	1,28	1,25	%
Δ^4 -A	36,37	15,46	19,65	6,68	5,56	15,72	7,53	%

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Normales Lebergewebe von Männern

Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron

Fraktion	J.M.	G.M.
5 α ,3 α -Adiol	1,67	3,42 %
5 β ,3 α -Adiol	18,64	21,99 %
5 α ,3 β -Adiol	4,07	0,92 %
5 α ,3 α -A	4,07	0,42 %
5 β ,3 α -A	24,39	34,88 %
5 β -DHT	4,43	2,32 %
5 α -DHT	2,39	1,44 %
e-T	2,88	2,54 %
T	15,20	14,69 %
5 β -Adion	0,51	2,61 %
5 α -Adion	0,05	0,94 %
Δ^4 -A	14,36	10,25 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Zirrhoseleber von Männern

Inkubation von 4- 14 C-Testosteron

Fraktion	H.G.	M.I.
5 α , 3 α -Adiol	0,16	2,06 %
5 β , 3 α -Adiol	6,27	12,57 %
5 α , 3 β -Adiol	0,00	0,47 %
5 α , 3 α -A	0,00	2,68 %
5 β , 3 α -A	5,63	15,79 %
5 β -DHT	1,68	2,52 %
5 α -DHT	0,00	1,00 %
e-T	0,00	0,00 %
T	73,96	49,34 %
5 β -Adion	0,00	1,48 %
5 α -Adion	0,00	0,27 %
Δ^4 -A	9,02	9,95 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
 die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen
 chronische Hepatitis von Männern
 Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron

Fraktion	H.W.	E.We.	E.Wi.	P.B.	W.S.	A.K.	
5 α ,3 α -Adiol	0,92	0,65	0,73	1,59	3,66	1,16	%
5 β ,3 α -Adiol	11,58	8,18	14,26	12,87	17,10	20,29	%
5 α ,3 β -Adiol	0,79	1,17	3,17	1,30	1,21	6,14	%
5 α ,3 α -A	1,25	3,05	2,22	1,40	4,03	3,05	%
5 β ,3 α -A	17,72	6,30	17,24	3,47	7,74	14,91	%
5 β -DHT	2,41	2,04	2,73	2,07	2,97	5,01	%
5 α -DHT	1,20	1,30	2,02	1,12	1,47	2,57	%
e-T	0,69	2,08	0,48	0,00	5,12	1,47	%
T	41,72	50,64	42,01	59,01	36,53	25,61	%
5 β -Adion	0,77	0,64	1,26	0,86	0,88	0,95	%
5 α -Adion	0,32	0,54	0,83	1,02	0,45	1,28	%
Δ^4 -A	19,42	13,89	11,62	12,10	17,16	13,09	%

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Fettlebergewebe von Männern

Inkubation von 4- 14 C-Testosteron

Fraktion	K.S.	A.S.
5 α ,3 α -Adiol	1,20	1,50 %
5 β ,3 α -Adiol	17,71	9,90 %
5 α ,3 β -Adiol	1,22	1,04 %
5 α ,3 α -A	2,21	4,15 %
5 β ,3 α -A	21,60	24,75 %
5 β -DIHT	6,14	4,91 %
5 α -DIHT	2,61	1,24 %
e-T	1,20	3,66 %
T	34,31	33,03 %
5 β -Adion	1,15	5,10 %
5 α -Adion	3,02	2,16 %
Δ^4 -A	2,40	1,59 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
 die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen
 Lebergewebe von Patienten mit Klinefelter-Syndrom
 Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron

Fraktion	T.S.	H.A.	J.S.	C.L.	L.C.	E.L.
5 α ,3 α -Adiol	0,00	0,00	0,32	0,75	0,93	1,04 %
5 β ,3 α -Adiol	12,29	13,12	16,58	31,51	18,44	18,55 %
5 α ,3 β -Adiol	0,89	2,57	2,72	4,55	2,58	5,08 %
5 α ,3 α -A	1,22	5,26	0,00	2,35	3,73	2,38 %
5 β ,3 α -A	16,22	29,58	35,27	27,27	18,41	20,31 %
5 β -DHT	2,46	6,84	3,31	4,03	3,55	5,80 %
5 α -DHT	1,08	3,33	2,55	0,62	2,17	2,69 %
e-T	0,63	2,70	1,30	2,08	1,84	1,55 %
T	52,58	15,44	29,07	14,19	28,97	28,39 %
5 β -Adion	1,02	2,61	1,47	1,30	0,83	2,69 %
5 α -Adion	0,46	3,06	1,18	1,13	1,95	1,55 %
Δ^4 -A	9,18	4,23	4,68	6,50	9,38	6,74 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Normales Lebergewebe von Frauen

Inkubation von 4-¹⁴C-Testosteron

Fraktion	F.W.	H.R.	A.K.	H.L.	M.H.	K.G.	J.L.	
5 α ,3 α -Adiol	2,49	0,00	1,05	3,09	0,37	0,70	0,00	%
5 β ,3 α -Adiol	0,74	2,62	1,30	4,60	7,61	3,79	5,60	%
5 α ,3 β -Adiol	0,35	0,00	1,06	0,99	1,23	2,36	1,50	%
5 α ,3 α -A	0,71	0,52	1,92	2,62	2,77	2,49	1,80	%
5 β ,3 α -A	11,53	35,01	24,99	41,64	44,73	30,88	26,90	%
5 β -DHT	1,93	1,73	4,06	3,41	4,52	8,95	2,90	%
5 α -DHT	0,00	0,00	2,05	0,35	1,08	2,78	1,40	%
e-T	0,07	0,06	0,54	2,35	1,47	3,32	2,60	%
T	2,51	0,00	4,06	6,77	6,28	8,32	13,30	%
5 β -Adion	2,54	5,14	0,48	5,96	5,92	3,44	3,20	%
5 α -Adion	0,37	0,94	0,98	1,71	1,53	2,11	1,50	%
Δ^4 -A	75,06	63,20	53,60	14,11	15,02	18,88	32,60	%

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Normales Lebergewebe von Frauen

Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

Fraktion	J.M.	G.M.
5 α ,3 α -Adiol	1,00	2,65 %
5 β ,3 α -Adiol	7,48	11,87 %
5 α ,3 β -Adiol	2,49	0,72 %
5 α ,3 α -A	4,21	0,66 %
5 β ,3 α -A	44,92	51,79 %
5 β -DHT	4,29	2,00 %
5 α -DHT	2,54	1,44 %
e-T	1,32	2,32 %
T	6,96	4,68 %
5 β -Adion	0,78	3,66 %
5 α -Adion	0,42	0,96 %
Δ^4 -A	13,96	14,43 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Zirrhoseleber von Männern

Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

Fraktion	H.G.	M.I.
5 α ,3 α -Adiol	0,21	1,42 %
5 β ,3 α -Adiol	3,30	7,52 %
5 α ,3 β -Adiol	0,12	0,61 %
5 α ,3 α -A	0,93	4,82 %
5 β ,3 α -A	15,95	35,60 %
5 β -DHT	1,66	2,82 %
5 α -DHT	1,12	0,48 %
e-T	0,24	1,55 %
T	16,40	10,57 %
5 β -Adion	3,50	2,78 %
5 α -Adion	1,04	0,78 %
Δ^4 -A	49,97	28,71 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

chronische Hepatitis von Männern

Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

Fraktion	H.W.	E.We.	E.Wi.	P.B.	W.S.	H.K.	
5 α ,3 α -Adiol	0,63	0,00	0,41	0,92	1,46	0,45	%
5 β ,3 α -Adiol	5,64	0,00	4,83	5,50	5,57	4,29	%
5 α ,3 β -Adiol	0,67	0,31	1,80	1,56	0,88	2,13	%
5 α ,3 α -A	1,60	1,21	3,40	1,77	3,94	4,23	%
5 β ,3 α -A	31,94	20,35	29,87	12,38	23,36	43,15	%
5 β -DHT	2,63	0,00	2,80	2,71	2,43	4,75	%
5 α -DHT	1,44	3,22	1,02	1,04	0,00	2,67	%
e-T	1,07	0,52	0,84	0,00	1,18	2,23	%
T -	12,14	0,00	4,38	11,29	6,45	7,97	%
5 β -Adion	1,52	1,60	1,78	2,60	1,48	2,39	%
5 α -Adion	0,90	0,18	0,88	1,96	0,38	1,61	%
Δ^4 -A	37,31	72,50	45,07	52,20	51,92	20,54	%

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Fettlebergewebe von Männern

Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

Fraktion	K.S.	A.S.
5 α ,3 α -Adiol	1,15	1,45 %
5 β ,3 α -Adiol	9,71	9,10 %
5 α ,3 α -Adiol	1,22	0,91 %
5 α ,3 α -A	2,61	4,75 %
5 β ,3 α -A	29,59	33,54 %
5 β -DHT	4,01	4,37 %
5 α -DHT	2,79	1,15 %
e-T	1,14	4,02 %
T	4,19	11,59 %
5 β -Adion	1,83	4,83 %
5 α -Adion	4,52	2,12 %
Δ^4 -A	32,18	13,48 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
 die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen
 Lebergewebe von Patienten mit Klinefelter-Syndrom
 Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

Fraktion	J.S.	C.L.	L.C.	E.L.
5 α ,3 α -Adiol	0,39	0,39	1,18	0,59 %
5 β ,3 α -Adiol	13,71	8,09	7,61	9,24 %
5 α ,3 β -Adiol	2,62	2,10	1,35	2,47 %
5 α ,3 α -A	0,76	2,86	2,32	3,12 %
5 β ,3 α -A	44,64	54,47	40,64	40,04 %
5 β -DHT	3,51	3,24	4,06	4,80 %
5 α -DHT	2,81	0,59	2,10	2,65 %
e-T	2,04	2,08	3,11	1,91 %
T	10,48	10,62	11,44	6,86 %
5 β -Adion	1,88	2,69	1,06	4,30 %
5 α -Adion	1,64	1,54	3,02	2,12 %
Δ^4 -A	12,18	5,46	15,70	18,67 %

Verteilung der Radioaktivität in % der Gesamtaktivität auf
die einzelnen Steroidhormone in den Gasfraktionen

Normales Lebergewebe von Frauen

Inkubation von 1,2-³H-Androstendion

G LITERATURVERZEICHNIS

- (1) DORFMAN, R.I. and F. UNGAR: Metabolism of Steroid Hormones
Academic Press, New York, London, 1965
- (2) TAMM, J.: Der Testosteronstoffwechsel beim Menschen
Dtsch. Med. Wschr. 92, 43: 1983 - 1987, 1967
- (3) STAIB, W.: Der intrazelluläre Testosteronstoffwechsel
Referat 13. Symposium Endokrinologie
- (4) BREUER, H. and G. S. RAO: Enzymatic aspects of the metabolism
and conjugation of Testosterone
Research on Steroids III, 33, 1968
- (5) BREUER, H., L. NOCKE und I. PECHTHOLD: Stoffwechsel von Testosteron
in normalen und neoplastischen Geweben des Menschen
Z. Vit. Horm.-u. Fern.-Forsch. 10, 106, 1959
- (6) GLOYNA, R. E. and J. D. WILSON: A comparative study of the con-
version of Testosterone to 17 β -hydroxy-5 α -andro-
stan-3-one (Dihydrotestosterone) by prostate and
epididymidis
J. clin. Endocr. 29, 970, 1969
- (7) WOTIZ, H. H. and H. M. LEMON: Metabolism of Testosterone by
human prostatic tissue slices
J. biol. Chem. 206, 525, 1954
- (8) GOMEZ, E. C. and S. L. HSIA: In vitro metabolism of Testosterone-
4-¹⁴C and Δ^4 -androstene-3,17-dione-4-¹⁴C in human
skin
Biochemistry 7, 24, 1968
- (9) ENGELHARDT, D., H. WIEDEMANN und H. J. KARL: Untersuchungen über
den Stoffwechsel von Testosteron in der Haut
des Menschen
Verh. d. dtsh. Ges. f. inn. Med. 76, 879, 1970

- (10) SAMUELS, L.T., M.L. SWEAT, B.H. LEVEDAHL, M.M. POTTNER and M.L. HELMREICH: Metabolism of Testosterone by livers of different species of animals
J. biol. Chem. 183, 231, 1950
- (11) YATES, F.E., A.L. HERBST, J. URQUHART: Sex difference in rate of ring A reduction of Δ^4 -3-keto-steroids in vitro by rat liver
Endocrinology 63, 887, 1958 a
- (12) SCHRIEFERS, H., W. CREMER and M. OTTO: Sex difference in Testosterone metabolism of the perfused rat liver
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 183, 1967
- (13) DEMISCH, K., P. BIRCKELBACH, U. ANMEDICK and W. STAIB: Subcellular distribution of Testosterone metabolites after perfusion of isolated livers of guinea pig
Acta Endocrin. 62, 147, 1969
- (14) STYLIANOU, M.E., E. FORCHIELLI, M. TUMMILLO and R.I. DORFMAN: Metabolism in vitro of 4- 14 C-testosterone by a human liver homogenate
J. Biol. Chem. 236, No. 3, 692, 1961
- (15) LISBOA, B.P., I. DROSSE and H. BREUER: Stoffwechsel von Testosteron in Leberschnitten des Menschen
Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 342, 123, 1965
- (16) BREUER, H., J. BREUER and B.P. LISBOA: Intermediary metabolism of Testosterone in human liver under normal and pathological conditions
in "Testosterone": Hsg. J. Tamm, Thieme Verlag 1968

- (17) BAULIEU, E.E. and P. MAUVAIS-JARVAIS: Studies on Testosterone metabolism: II. Metabolism of Testosterone-4-¹⁴C and Androst-4-en-3,17-dione-1,2-³H
J. Biol. Chem. 239, No. 5, 1578, 1964
- (18) NORTHCUTT, R.C., D.P. ISLAND and G.W. LIDDLE: An explanation for the target organ unresponsiveness to Testosterone in the testicular feminisation syndrome
J. clin. Endocrin. 29, 422, 1969
- (19) WIEDEMANN, M., L. RAITH and H. J. KARL: Untersuchungen über die Adsorption von Steroiden an Florisil und Amberlite. Methode zur getrennten Bestimmung der Glucuronide und Sulfate von Androgenen.
Z. Anal. Chem. 252, 287, 1970
- (20) PIERCE, A.F.: Silylation of organic compounds
Pierce Chemicals Co, Rockford/Illinois 1968
- (21) EIK-NES, K.B. and E.C. HORNING: Gas phase chromatography of steroids
Springer Verlag, Berlin 1968
- (22) DELIN, S., P.Q. SQUIRE and J. PORATH: Purification of steroid-induced enzymes from Pseudomonas Testosteroni
Bioch. Bioph. Acta 89, 398, 1964
- (23) CHAMBAZ, E.M., G. MAUME, B. MAUME and E.C. HORNING: Silylation of steroids. Formation of enol trimethylsilyl ethers and oxysilylation products
Anal. Letters 1, (12), 749, 1968

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr.H.Schwiegk,daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

Besonders danke ich Herrn Prof.Dr.H.J.Karl für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung, die er mir während meiner Arbeit zukommen ließ.

Herrn Dr.D.Engelhardt möchte ich besonders für die bereitwillige Hilfe und seine wertvollen Ratschläge danken.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 9.10.1945 in München geboren. Von 1952 bis 1956 besuchte ich die Volksschule in München. Nach Beendigung der 4. Klasse der Volksschule trat ich im Jahre 1956 in das Realgymnasium in Icking ein. Die Reifeprüfung legte ich an der genannten Schule im Jahre 1966 ab.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich das medizinische Studium an der Ludwigs-Maximilians-Universität in München. Im Sommersemester 1972 legte ich dort das medizinische Staatsexamen ab.

Nach dem Staatsexamen arbeitete ich vom 1.2.1973 bis 31.5.1973 als Medizinalassistent in der chirurgischen Abteilung des Kreiskrankenhauses Wolfratshausen. Seit dem 1.6.1973 arbeite ich als Medizinalassistent an der I. Medizinischen Universitätsklinik München.

